

## ***TESIS DOCTORAL***

# ***Procesado por técnicas coloidales y caracterización de materiales polímero/Mg para aplicaciones en la industria biomédica***

**Autor:**

**Ana Ferrández Montero**

**Director/es:**

**Dra. Begoña Ferrari Fernández  
Dra. Marcela Lieblich Rodríguez  
Dr. Jose Luis González Carrasco**

**Tutor:**

**Dra. Elena Gordo**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA  
E INGENIERÍA DE MATERIALES**





Universidad  
Carlos III de Madrid

# **Procesado por técnicas coloidales y caracterización de materiales polímero/Mg para aplicaciones en la industria biomédica**

Memoria presentada por:

**Ana Ferrández Montero**

Para optar al título de Doctor en Ciencia  
e Ingeniería de Materiales

Directores:

**Dra. Begoña Ferrari Fernández**

**Dra. Marcela Lieblich Rodríguez**

**Dr. Jose Luis González Carrasco**



**CSIC**  
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



**CENIM**  
Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas

Madrid, 2018





El autor agradece a la CAM el proyecto:

MULTIMAT Challenge: Materiales  
Multifuncionales para retos de la  
Sociedad: S2013/MIT-2862



En el cual se engloba esta tesis doctoral,  
y a Jecs Trust, de la Sociedad Europea de Cerámica (ECERS),  
por la financiación que me permitió  
realizar mi estancia en el extranjero.



Este proyecto se encuadra dentro de los objetivos de los proyectos:

MAT2015-63974-C4-1, MAT2016-79869-C2-1-P,  
MAT2015-70780-C4-1-P  
M-ERA.NET-2016: PCIN-2017-036





*A mis padres y a mi hermano*



## Agradecimientos

Son muchas las personas que me han ayudado durante el desarrollo de esta tesis doctoral. En estas líneas me gustaría agradecerles su apoyo y su guía, ya que sin él este trabajo no habría sido posible.

En primer lugar me gustaría agradecer a mis directores de tesis, a la Dra. Marcela Lieblich, al Dr. José Luis González Carrasco y a la Dra. Begoña Ferrari, por su constante apoyo durante la realización de esta tesis doctoral. Gracias por vuestra confianza y vuestra paciencia conmigo, por los consejos y las enseñanzas que me habéis dado no solo a nivel académico.

Deseo agradecer especialmente a la Dr. Rosario Benavente, por su grandísima ayuda y su tiempo invertido en esta tesis, por haberme abierto las puertas de su laboratorio, pero también por todos los conocimientos que me ha transmitido.

A la Prof. Elena Gordo de la Universidad Carlos III de Madrid por la tutela de esta tesis y por su ayuda a nivel administrativo para poder llegar a presentarla.

Al Prof. Aldo R. Boccaccini del *Institute of Biomaterials de University of Erlangen-Nuremberg*, por darme la oportunidad de realizar mi estancia en el instituto de biomateriales y al Dr. Rainer Destch por su orientación durante mi trabajo allí. Gracias a todos los compañeros que me ayudaron durante esta etapa, especialmente gracias a Alina, por su ayuda en los ensayos biológicos y a Irem, Inês y Laura por su amistad.

Agradezco al Dr. Antonio Javier Sanchez Herencia, su ayuda y su consejo, especialmente en esta última etapa tan dura.

A todas las personas que me han ayudado con varias de las técnicas que he desarrollado durante la tesis. Del CENIM a Antonio por su gran disponibilidad en el uso del SEM, a Jesús Chao por los ensayos de compresión, Irene por los Rayos X, a Miguel, Paco, Cristian y a Esther de análisis químico. Del ICV a Cristina, Desiré, David por su gran ayuda con la nanoindentación, a Isabel y David Calatayud por su ayuda con los TGA y al laboratorio de análisis químico. A Kike del ICTP por su gran disponibilidad con los DSC cuando estaba más perdida. Por último, a Vicente Lorenzo por su ayuda con los

ensayos de permeabilidad y con sus consejos sobre otros resultados obtenidos durante la tesis.

Gracias a mis compañeros del grupo de investigación “*Tailoring through colloidal Processing*” Zoilo, Esther, Miguel, Joaco, Maca, Guille, Javi por haber colaborado a la elaboración de esta tesis y por haber creado este fantástico ambiente de trabajo en el cual realizarla ha sido mucho más ameno y llevadero. También al resto de compañeros y personal del ICV, especialmente a la Yoli, a Jose, Jadra, María, Giulio, Laura, Sara y por supuesto a mis fantásticos compañeros de despacho.

También a mi grupo de investigación del CENIM, AVANZA, así como al resto de compañeros que me han acompañado durante esta etapa, a Sandra, David, Edu, Alberto y a mi gran compañera de despacho y de largas conversaciones, Judit. Por último a mis compañeras pero también a mis amigas, Marta, Ruth y Sara, esto no hubiera sido lo mismo sin haberos conocido.

Por otro lado me gustaría agradecer el haber estado ahí a mis chicas Bea, Natalia, Inma e Irene por ayudarme a desconectar cuando de verdad lo necesitaba y por escucharme cuando desahogarme era la única opción. Pero en especial, quiero darle las gracias a mi prima Pilar, por ser la hermana que nunca he tenido, por quererme y aguantarme tal y como soy. También agradecer a Jorge por estar siempre ahí, sin excusas.

Quiero dar las gracias a Fer, en primer lugar por aguantarme durante estos tres años, que sé que no ha sido una tarea fácil, y por esforzarte tanto en entender este mundo en el que estoy inmersa. Pero sobre todo por quererme de esa manera tan increíble, por ser bueno, paciente, y por hacer de la vida algo tan sencillo. Gracias por ser siempre mi compañero de viaje.

Por último, quiero agradecer a toda mi gran familia, a mis tíos, a mis primos, a mis abuelos por el apoyo, el cariño y la felicidad que me llevan dando desde siempre. Pero especialmente quiero dedicar esta tesis a mis padres, porque nadie me conoce y me quiere como ellos y porque gracias a ellos soy lo que soy; y a David, por ser mi ejemplo a seguir, por exigirme siempre más y más, por ser el mejor hermano que se puede tener. Gracias por lo orgullosos que sé que estáis de mí, esto también os pertenece.

## Abstract

During recent years, PLA / Mg composite materials have emerged as new bioabsorbable biomaterials for osteosynthesis applications. It has been proposed that the incorporation of Mg particles into a matrix based on a biodegradable polymer can address, on the one hand, the lack of bioactivity and the low mechanical properties of the polymers and, on the other, the high rate of degradation or corrosion of Mg and its alloys. Many methods for the preparation of polymer/bioinorganic material have been reported, some typical examples are extrusion mixing, compression molding and solvent casting. The manufacture challenge of these materials is to achieve a particle homogeneous dispersion in the final PLA structure.

This work reports on a novel processing route that is based on a colloidal mixture of Mg powder and PLA aimed to prevent the drawbacks associated to the polymer degradation during the mixing step of conventional thermoplastic routes and increase the maximum load achieved (10% by mass) during conventional routes. To fulfill this requirement it was necessary to improve the PLA-Mg interaction, as well as to increase the dispersion of the Mg in the final mixture through the surface modification of particles. Mg was modified by the adsorption of two different stabilizers, a surfactant (CTAB) and a polyelectrolyte (PEI). The dispersed and chemically stable suspension of modified Mg particles was mixed with the PLA solution in THF, and was used as feedstock material to obtain tapes, by tape casting, and granules, by drying the mixture under reduced pressure conditions. Besides, these granules were used as feedstock for further manufacturing of bulk cylinders by compression moulding and 3D printing scaffolds by Fused Deposition Moulding (FDM).

The results show that, in the tapes, particle surface modification is directly associated with good load dispersion through interactions between groups present in the PLA and in the stabilizers either by the formation of hydrogen bonds or by ionic and electrostatic interactions. In the case of granules and compression moulding cylinders it is observed a covalent bond between PEI and PLA, which is produced by the temperature applied during processing.

Mechanical behaviour was evaluated in terms of nanoindentation, mechanodynamics and tensile properties for tapes, and compression for compression moulding cylinders.

In the case of tapes, a Mg reinforcement effect in the matrix is observed at the proximity of the particles. Young's module and strength improve in tapes with up to 10 wt.% of Mg. At higher particle content, tensile mechanical improvement could not be verified due to fragilization of the materials. The thermopressed composites present a more evident improvement in the mechanical properties under compression with respect to the neat polymer, observing an increase of 10% in the elastic modulus for composites with 30 wt.% of Mg.

Regarding *in vitro* behavior, degradation and viability tests were carried out to verify that the new processing defined does not affect the biocompatibility and viability of PLA/Mg composites. The hydrogen release test shows that no material exceeds the amount tolerable by the human body, although the release is not proportional to the load, which is associated with a process of autocatalytic degradation. In the case of tapes, materials processed with modified Mg particles with PEI release less hydrogen than those modified with CTAB. Concerning biological tests, it is proved that the released components during the degradation of the composite do not produce cytotoxicity at the cellular level with fibroblastic cells (MEF) or stromal cells (ST-2). Finally, the direct tests carried out on the composite tapes allow concluding that for all the materials, except for the sample with 50 wt.% Mg, there is a significant increase in cell viability in comparison with the polymer matrix.



# Índice

1	Introducción .....	1
1.1	Necesidad de un material biodegradable .....	1
1.2	Materiales biodegradables existentes: ventajas y desventajas .....	3
1.3	Materiales biodegradables compuestos base PLA .....	6
1.4	Materiales compuestos PLA/Mg .....	14
1.5	Técnicas de procesado .....	19
1.6	Dispersión coloidal .....	23
1.6.1	Dispersión y estabilización de partículas .....	24
1.6.1.1	Estabilidad química y potencial Zeta .....	24
1.6.1.2	Mecanismos de estabilidad coloidal .....	26
2	Objetivos .....	47
3	Procedimiento experimental y técnicas de caracterización .....	49
3.1	Modificación superficial de las partículas de Mg y preparación de las suspensiones PLA/Mg .....	49
3.1.1	Materiales .....	49
3.1.2	Tamaño de partícula .....	49
3.1.3	Microscopía electrónica de barrido (MEB) .....	50
3.1.4	Reactividad en agua del Mg .....	51
3.1.4.1	Inducción de plasma acoplado (ICP) .....	51
3.1.5	Difracción de Rayos X (DRX) .....	51
3.1.6	Potencial zeta .....	52
3.1.7	Preparación de suspensiones de alto contenido en sólidos .....	53
3.1.8	Reología .....	53
3.2	Procesado de los materiales compuestos .....	55
3.2.1	Mezcla en vía húmeda .....	55
3.2.2	Procesado de las cintas .....	57
3.2.3	Procesado del polvo y moldeo por compresión .....	58
3.2.1	Procesado del filamento y de las piezas porosas .....	59
3.3	Caracterización físico-química .....	60
3.3.1	Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier de los materiales compuestos .....	60

3.3.2	Calorimetría diferencial de barrido.....	60
3.3.3	Análisis termogravimétrico de los materiales compuestos .....	62
3.3.4	Permeabilidad de las cintas.....	63
3.3.5	Estudio de la morfología superficial de las cintas .....	64
3.4	Caracterización mecánica .....	65
3.4.1	Nanoindentación.....	65
3.4.2	Propiedades mecanodinámicas (DMTA).....	68
3.4.3	Ensayos de tracción y compresión.....	68
3.5	Degradación <i>in vitro</i> .....	70
3.5.1	Liberación de hidrógeno .....	70
3.5.2	Microscopía electrónica y EDS .....	71
3.5.3	Ensayos de absorción de agua y pérdida de masa .....	71
3.6	Ensayos biológicos .....	72
3.6.1	Esterilización .....	72
3.6.2	Cultivo de fibroblastos y células estromales .....	72
3.6.3	Ensayo indirecto .....	72
3.6.4	Ensayos directos .....	74
4	Resultados y discusión .....	77
4.1	Modificación superficial de las partículas de Mg para la formulación y granulación de suspensiones PLA/Mg.....	77
4.1.1	Estudio de la estabilidad química y coloidal de las partículas de Mg en agua.....	78
4.1.2	Granulación de las suspensiones de PLA/Mg .....	98
4.1.3	Formulación de los materiales de partida.....	100
4.2	Compuestos PLA/Mg conformados por colada en cinta: Caracterización físico-química.....	107
4.2.1	Caracterización estructural y térmica de las cintas PLA/Mg .....	107
4.2.2	Caracterización microestructural y superficial de las cintas PLA/Mg ...	127
4.3	Termoprensado e impresión 3D: Conformado de los gránulos de PLA/Mg .	143
4.3.1	Caracterización de los gránulos y diseño del ciclo térmico.....	144
4.3.2	Termoprensado de piezas densas PLA/Mg .....	152
4.3.3	Impresión tridimensional de andamios PLA/Mg.....	162
4.4	Propiedades mecánicas y caracterización <i>in vitro</i> de los materiales PLA/Mg.....	171

4.4.1	Cintas PLA/Mg.....	172
4.4.1.1	Propiedades mecánicas de las cintas de PLA/Mg.....	172
4.4.1.2	Caracterización <i>in vitro</i> de las cintas de PLA/Mg .....	182
4.4.1.3	Ensayos biológicos .....	197
4.4.2	Piezas densas de PLA/Mg termoprensadas .....	211
4.4.2.1	Propiedades mecánicas de piezas densas de PLA/Mg.....	211
4.4.2.2	Caracterización <i>in vitro</i> de piezas densas de PLA/Mg .....	214
4.4.2.3	Ensayos biológicos .....	222
5	Conclusions .....	233



*“Defiende tu derecho a pensar,  
porque incluso pensar de manera errónea es mejor que no pensar”*

Hipatia de Alejandría



# 1 Introducción

## 1.1 Necesidad de un material biodegradable

Un biomaterial es un material sintético o natural que mejora o reemplaza total o parcialmente un tejido, órgano o función biológica del cuerpo durante un período de tiempo, con el fin de facilitar la curación después de una lesión o enfermedad y de mantener o mejorar la calidad de vida del individuo [1]. La primera generación de biomateriales tenía pocos requisitos para su uso en aplicaciones biomédicas, se requerían unas propiedades mecánicas lo más próximas a las del tejido que se sustituía, resistencia a la corrosión en medio acuoso, y por último que fueran biocompatibles y no produjeran toxicidad ni reacción a cuerpo extraño. Estos materiales son denominados inertes o bioinertes y dentro de esta categoría destaca principalmente el titanio y sus aleaciones, además de algunos materiales cerámicos como la alúmina o la zircona y poliméricos como el polimetacrilato [2]. Entre ellos destaca el titanio que ha sido utilizado con éxito como material para implantes, lo que se atribuye a su excelente biocompatibilidad, a su no reactividad debido a la formación de una capa de óxido estable en su superficie, a sus buenas propiedades mecánicas (módulo elástico de 110 GPa) y su baja densidad [3].

Sin embargo, los implantes permanentes presentan ciertas desventajas que pueden llegar a producir graves problemas en los pacientes. El principal inconveniente se debe a que, una vez el tejido afectado se ha recuperado por completo, se suele requerir de una segunda cirugía para eliminar la prótesis ya implantada, debido a los problemas asociados a la permanencia del implante en el cuerpo. Algunos de estos problemas son la conductividad térmica, la hipersensibilidad al metal, carcinogénesis química y/o las infecciones asociadas [4]. Comúnmente un hueso fracturado y fijado con un implante permanente tiene tendencia a refracturarse debido a la falta de estimulación durante la recuperación del nuevo hueso ya que no ha soportado la suficiente carga siendo la prótesis la encargada de ello (apantallamiento de carga) [5]. Por otro lado, el uso de implantes permanentes está restringido en el caso de pacientes pediátricos ya que inhibe el crecimiento del hueso [6], [7].

Por todo esto, durante la segunda generación de biomateriales se desarrollaron y definieron nuevos materiales bioabsorbibles con la habilidad de degradarse

progresivamente. Para clasificar un biomaterial como bioabsorbible, este debe ser biodegradable en el medio biológico y sus productos de degradación deben ser metabolizados por el cuerpo humano y ser completamente biocompatibles, además debe tener una vida útil aceptable y unas propiedades mecánicas apropiadas.

Por otro lado, la degradación y la consecuente pérdida de propiedades del material deben ir en consonancia con la mejora de prestaciones del nuevo tejido que esté suplantando, como se muestra en la Figura 1.1. Algunos ejemplos de materiales bioabsorbibles son los fosfatos tricálcicos, metales como el magnesio y polímeros biodegradables como el ácido poliláctico (PLA), la polidioxanona (PDS) o el quitosano. Las aplicaciones de este tipo de materiales son muy numerosas: implantes en osteosíntesis, tornillos, hilos de sutura, *stent* esofágicos y vasculares o aplicaciones dentales.

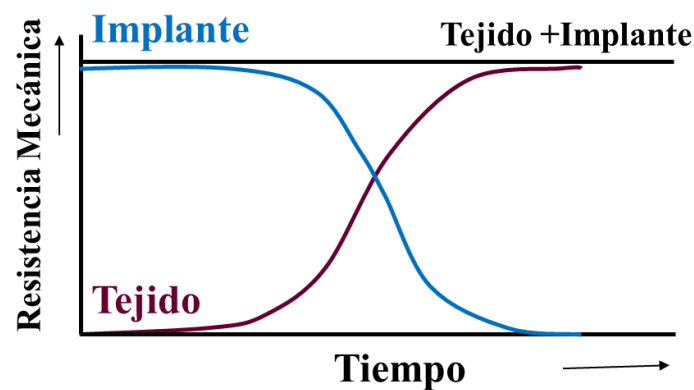


Figura 1.1. Comportamiento ideal de un implante biodegradable, donde este pierde sus propiedades (resistencia mecánica) conforme el tejido se recupera.

En la segunda generación también se definieron los materiales denominados bioactivos, los cuales tienen la capacidad de provocar una respuesta biológica específica en su superficie que da como resultado una interacción tejido-biomaterial [8]. Dentro de esta definición se engloba cualquier interacción o efecto que los materiales ejerzan sobre las células con el objetivo de conducirlos o activarlos a ciertos comportamientos o respuestas.

La tercera generación aúna biomateriales que sean tanto bioabsorbibles como bioactivos y que puedan estimular una respuesta celular específica. Dentro de esta investigación surgen los compuestos y los nanocompuestos de base polimérica cargados con partículas inorgánicas, que nacen como materiales biodegradables con propiedades mecánicas mejoradas que poseen bioactividad.



El diseño de nuevos y mejores implantes también ha evolucionado en los últimos años. Dentro de los numerosos diseños que se encuentran en el mercado destacan: (i) Los materiales de relleno de defectos óseos, que crean un soporte para el crecimiento de nuevo hueso; (ii) los materiales encargados de conectar o reemplazar tejidos blandos como los materiales de sutura, los apósitos o los implantes de piel; (iii) los implantes para ortopedia o dentales como pueden ser tornillos, placas o implantes masivos [9].

Entre otras aplicaciones para osteosíntesis, actualmente la investigación de biomateriales se centra en el desarrollo de *scaffolds* o andamios para la ingeniería de tejidos. Son materiales porosos de tres dimensiones que deben tener los mismos requerimientos que los anteriores biomateriales en términos de biabsorción y bioactividad, pero además poseen grandes ventajas como matrices extracelulares (ECM) que proporcionan una estructura de soporte 3-D a las células, produciendo mejores resultados en la recuperación del tejido que los materiales densos. La producción de este tipo de estructuras incluye polímeros biodegradables naturales, polímeros biodegradables sintéticos, hidrogeles así como vidrios y cerámicos. [10]

## **1.2 Materiales biodegradables existentes: ventajas y desventajas**

En los últimos años se han desarrollado una amplia variedad de materiales biodegradables para implantes o injertos, los cuales se pueden dividir en materiales biodegradables poliméricos, metálicos y cerámicos.

En la actualidad, los biomateriales cerámicos tienen como principales aplicaciones el relleno de defectos o la reparación de fracturas. Esto se debe principalmente a sus buenas propiedades mecánicas en términos de dureza, aunque además son materiales biocompatibles, tienen resistencia a la corrosión y son bioactivos [11]. En este grupo destacan los fosfatos cálcicos que se subdividen en los dos tipos que más se han investigado, la hidroxiapatita y los fosfatos tricálcicos (TCP). La hidroxiapatita es un componente químicamente similar al hueso humano, es osteoconductor y osteoinductor. Su degradación, según cual sea su aplicación final, es considerada en ocasiones lenta. En el caso del TCP, este existe en dos cristalinidades diferentes ( $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP), aunque debido a su estabilidad el  $\beta$ -TCP es el más estudiado para aplicaciones biomédicas [12]. Sus propiedades son muy similares a las de la hidroxiapatita pero su velocidad de degradación es más rápida.

Los biocerámicos principalmente cuentan con la ventaja de tener estructuras porosas favoreciendo su osteoconductividad y el crecimiento del hueso. Son materiales que se utilizan en aplicaciones donde la degradación deba ser progresiva y de manera prolongada. Algunos ejemplos son la reconstrucción ósea, implantes dentales, reconstrucción maxilofacial, reconstrucción articular, restauración de tendones o de ligamentos [13].

Los materiales biodegradables metálicos son materiales de base metálica que se degradan gradualmente liberando unos productos de corrosión que producen una respuesta adecuada dentro del organismo de manera que puedan ayudar a la curación del tejido sin dejar residuos tóxicos. El componente principal de estos implantes debe ser un elemento metálico esencial que pueda ser metabolizado por el cuerpo humano [14]. Actualmente son dos los sistemas más estudiados, los materiales base hierro y base magnesio, aunque también se desarrollan base zinc.

En el caso de los materiales base hierro, nos encontramos con que este metal posee una tasa de degradación demasiado lenta para aplicaciones biomédicas por lo que en numerosas ocasiones se han estudiado diferentes aleaciones para mejorar sus propiedades. Algunos ejemplos son aleaciones con carbono, silicio, azufre, manganeso o wolframio [15]. Estos materiales tienen una buena resistencia y alargamiento por lo que son unos buenos candidatos para aplicaciones como *stents* [16].

El magnesio es uno de los materiales biodegradables más prometedores [14], [17], sin embargo, a pesar de su alta resistencia mecánica, su velocidad de degradación es demasiado rápida y sus propiedades mecánicas disminuyen drásticamente en la etapa inicial de su degradación. Por otro lado, su proceso de degradación conlleva el aumento de pH del medio así como la liberación de hidrógeno, que puede irritar el tejido lesionado. Una estrategia directa para abordar la acumulación de hidrógeno es reducir la velocidad de corrosión.

Existen diferentes elementos aleantes para poder solucionar los problemas intrínsecos de este metal [18]. En algunos casos estos elementos, que no suelen ser biodegradables, pueden comprometer la biocompatibilidad de los implantes a largo plazo. Otra propuesta de aleaciones de Mg con baja velocidad de corrosión se basa en aleaciones de ultra alta pureza, reforzadas con Zn y Ca, ambos biocompatibles [19]. Algunas aleaciones de magnesio amorfo también presentan una reducción drástica de la

velocidad de corrosión con respecto al Mg puro. Hasta ahora, solo hay muy pocos implantes de Mg disponibles comercialmente [20].

Por último, son muchos los polímeros tanto naturales como sintéticos que cumplen los requerimientos que necesita un biomaterial degradable para aplicaciones biomédicas. Tienen numerosas ventajas al ser normalmente fáciles de modificar, de manera que se pueda controlar su tiempo de degradación alterando su estructura, cristalinidad o peso molecular. Estos polímeros pueden clasificarse en sintéticos o de origen natural [11]. Los dos polímeros naturales biodegradables más conocidos y utilizados son el colágeno y el quitosano. Aun siendo bioactivos cuentan con el inconveniente de tener una baja resistencia mecánica, por lo que suelen tener una mayor aplicabilidad como relleno o en pequeñas fracturas. En otros muchos casos pueden ser utilizados como matriz o carga de otros materiales con mejores propiedades mecánicas [21].

Los polímeros sintéticos para aplicaciones biomédicas resultan más atractivos que los naturales debido a que son más fáciles de modificar químicamente, lo que les dota de una versatilidad muy útil en este campo [22]. Los más usados y estudiados son los denominados poli ( $\alpha$ -hidroxiácidos) o poliésteres, que son fáciles de procesar y tienen un mínimo riesgo de toxicidad. Son ampliamente utilizados para diferentes aplicaciones médicas como materiales no bioactivos en implantes de fijación física o para liberación de fármacos [23]. Son biodegradables debido a su enlace éster susceptible de ser hidrolizado, lo que desencadena una pérdida de masa molecular ( $M_w$ ), la velocidad de esta pérdida depende de numerosos factores, entre ellos de la superficie expuesta del material o su cristalinidad.

Algunos ejemplos de estos polímeros sintéticos son la policaprolactona o la polidioxanona, pero los poliésteres biodegradables más extendidos son el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA) y sus copolímeros que a día de hoy ya son utilizados para fijación de tejidos, cirugías craneomaxilofaciales y fracturas óseas con bajos requerimientos mecánicos [24]. Al contar con cadenas alifáticas, su degradación hidrolítica mediante reacciones de desesterificación ocurre en el tiempo requerido para ser útiles en aplicaciones biomédicas. Uno de los implantes más pioneros que se desarrollaron base PGA exhibió unas buenas propiedades mecánicas de partida, que se perdieron en las primeras 6 semanas desde su implantación. El implante fue completamente absorbido en menos de un año, lo que produjo en un 60% de los casos

reacciones a cuerpo extraño [25]. Por esta razón, el PGA puro fue descartado como material para implantes ortopédicos aunque es usado en aplicaciones de sutura.

La última generación de materiales absorbibles son base PLA debido a sus tiempos de degradación más prolongados [26] y ha sido aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso clínico como biomaterial [13].

### **1.3 Materiales biodegradables compuestos base PLA**

El PLA (Figura 1.2) surge como un polímero biodegradable alternativo a los polímeros más comunes derivados del petróleo. Es biodegradable y compostable, y durante las últimas décadas ha recibido mucha atención al poder ser producido mediante el uso de fuentes renovables. Esto se debe a que su monómero, el ácido láctico, puede obtenerse por la fermentación de materiales derivados de origen vegetal [27]. Esta característica ha hecho que el PLA, aun sin ser un material novedoso, emerja con fuerza en las últimas décadas debido a las mejoras que han experimentado sus procesos de fabricación, gracias por ejemplo a la idea de producir monómeros a partir de materias primas agrícolas. Ello ha posicionado al PLA en la vanguardia de las industrias emergentes de plásticos biodegradables [28].

El ácido poliláctico tiene como unidad monomérica el ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanoico), el  $\alpha$ -hidroxiácido más simple, con un átomo de carbono quiral que posee dos formas enantioméricas. Dependiendo de los dos enantiómeros del PLA surgen tres formas estereoquímicas del polímero: ácido poli (L-láctico) (PLLA), ácido poli (D-láctico) (PLDA) y ácido poli(DL-láctico) (PDLLA), un copolímero que presenta ambos enantiómeros. Existen numerosas diferencias en términos de cristalinidad, propiedades mecánicas o térmicas y degradación, lo cual permite, mediante el control de la estereoquímica, obtener un amplio abanico de propiedades para diferentes aplicaciones. La polimerización más sencilla del ácido láctico para dar el poliéster sería mediante la policondensación convencional de los grupos hidroxilo y ácido carboxílico. Sin embargo, este tipo de polimerización suele originar problemas de tiempos prolongados si se quiere obtener un alto peso molecular. Por lo tanto la ruta más utilizada para la producción del PLA suele ser la polimerización por apertura de anillo (ROP), que convierte lactidas (Figura 1.2), el dímero cíclico del ácido láctico, en su respectivo polímero [29].

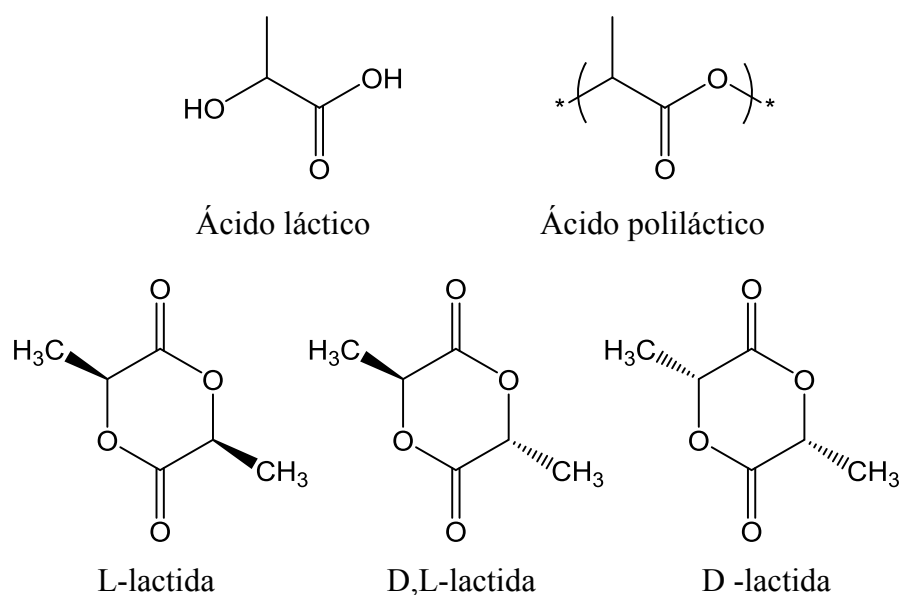


Figura 1.2. Estructura molecular del ácido láctico, del PLA y de las lactidas precursoras del polímero, L-lactida, D-lactida y D,L-lactida.

En cuanto a las propiedades que presenta el PLA, no solo dependen del peso molecular como lo hacen todos los polímeros, sino que en este caso también se debe tener en cuenta el porcentaje de isómero L/D que presenta. En cuanto a las propiedades mecánicas, el PLA se caracteriza por sus altos valores, con un módulo elástico a tracción de 2700 a 4000 MPa para el PLLA y de 1000 a 3500 para el PDLLA y una resistencia a la tracción de 15 a 150 MPa para el PLLA y de 28 a 50 MPa para el PDLLA. Sin embargo, la elongación a rotura es considerablemente baja para ser un material polimérico, entre el 2 y el 10% [30]. En cuanto a propiedades térmicas, el PLA tiene una temperatura de transición vítrea de aproximadamente 60-70°C y una temperatura de fusión entre 150 y 180 °C [31], [32]. Los esfuerzos para mejorar las propiedades del PLA comprenden la copolimerización, la mezcla con otros polímeros y su refuerzo con cargas inorgánicas.

Como se ha descrito anteriormente, dentro de los avances de las últimas décadas sobre biomateriales, el PLA ha sido considerado como una gran apuesta dentro del campo de los biodegradables. Estos implantes han demostrado ser biocompatibles y degradarse produciendo componentes no tóxicos para el organismo. La degradación que se lleva a cabo en medio acuoso es una degradación hidrolítica que produce la hidrólisis de los grupos éster disminuyendo el tamaño de cadena del polímero, lo que conlleva una pérdida progresiva del implante. Esta tasa de degradación dependerá de las condiciones en las que tiene lugar la degradación en cuanto a temperatura, pH del medio o presencia

de otros componentes que faciliten la depolimerización, pero más en concreto depende de dónde esté situado el implante y de su geometría. Dentro de las propiedades del material, afecta su química, peso molecular, cristalinidad, difusividad del agua y proporción de estereoisómeros L/D.

Hoy en día existen cierto tipo de implantes poliméricos de PLA implantados en el mercado, como implantes espinales, tapones intramedulares, armazones para cartílagos artificiales, tornillos, placas, mallas, anclajes de tejido, etc., ofrecido por varias compañías, como KLS Martin [33], PROXY Biomedical [34], RESCOLL Medical [35], BSI, VBM [36].

Aun siendo el PLA uno de los polímeros con más uso, cuenta con limitaciones para ciertas aplicaciones. Rasal *et al.* [37] y Farah *et al.* [38] describen algunos de sus principales inconvenientes que limitan su uso y que se presentan como retos que hay que abordar:

- (i) En primer lugar el PLA es un material muy frágil, con menos del 10% de elongación en la rotura, y tiene una baja dureza.
- (ii) El PLA es poco hidrofílico, con un ángulo de contacto de agua estático de aproximadamente 80°, lo cual origina problemas principalmente en la adhesión celular. Esto da como resultado una baja afinidad celular y puede provocar respuestas biológicas adversas como inflamaciones o reacción a cuerpo extraño [39].
- (iii) Falta de grupos reactivos de cadena lateral, lo que complica su modificación o unión con otros componentes.
- (iv) Su baja tasa de degradación. Adaptar un implante para que se degrade y transfiera la carga que soporta al tejido circundante a medida que se degrada a la velocidad adecuada es uno de los principales desafíos a los que se enfrentan los investigadores hoy en día [5]. El PLA presenta una tasa de degradación (que podría llegar a ser de hasta varios años en algunos casos) que se considera lenta para varias de sus aplicaciones en biomedicina.
- (v) Además de estos cuatro inconvenientes, existen otros problemas asociados al uso del PLA como biomaterial. Un ejemplo sería su total falta de bioactividad, lo que puede fomentar algunos de los problemas como la falta de integración con el tejido, produciendo la reacción a cuerpo extraño. Por

otro lado, la degradación de este polímero da como principal producto el ácido láctico, que produce una acidificación del medio en el que se encuentra el implante y que puede aumentar las respuestas adversas por parte del tejido receptor. Por último, el PLA es un polímero cuyas propiedades mecánicas, aun siendo consideradas buenas, están todavía lejos de ser similares a las del hueso cortical, por lo que no puede ser utilizado en aplicaciones con altos requerimientos mecánicos.

Con el fin de solventar estos inconvenientes y proponer alternativas mejoradas, son muchos los autores que han desarrollado diferentes estrategias para mejorar el PLA mediante su refuerzo con otros tipos de materiales. Los últimos desarrollos se centran en varias estrategias como la mezcla con otros polímeros o el refuerzo con cargas particuladas, ya sean nanocargas, microcargas o fibras, dando una amplia variedad de (nano) compuestos.

Dentro de la mezcla con otros polímeros que pueden ser añadidos al PLA, destacan los que mejoran el material sin comprometer su biodegradabilidad, ya que también son polímeros con capacidad de degradarse e incluso bioabsorberse. Algunos ejemplos comunes son mezclas con polietilenglicol (PEG) o policaprolactona (PCL) que mejoran las propiedades mecánicas. El PEG reduciría la fragilidad del polímero al actuar como plastificante mejorando su procesabilidad térmica, además de aumentar su hidrofilicidad [40]. La PCL es un polímero aprobado por la FDA para su uso en aplicaciones en el cuerpo humano como material de sutura o liberación controlada de fármacos. En ocasiones se ha mezclado con el PLA para intentar mejorar su fragilidad debido a su ductilidad intrínseca. Urquijo *et al.*[41] recientemente han obtenido una mejora razonable de la elongación a rotura con un 10 y 20% de PCL llegando de un 10% hasta un 140%, aunque con una pérdida considerable del módulo elástico.

El PLA también se ha mezclado con polisacáridos como el quitosano o el ácido hialurónico, o proteínas como el colágeno o la queratina. El quitosano es el componente orgánico mayoritario de la estructura extracelular del hueso y mejora al mezclarse con PLA la adhesión celular y la proliferación [21], [42]. El ácido hialurónico es un polímero natural que modifica las señales celulares así como su proliferación y diferenciación [43]. El colágeno es el componente orgánico mayoritario de la estructura extracelular del hueso, por lo que también mejora la adhesión y la proliferación celular

[44], [45]. Por último, la queratina, al poseer una buena adhesión celular por su alta polaridad y su reactividad química, compensa la falta de bioactividad del PLA [40], [41].

Otra opción para la mejora del PLA es la fabricación de compuestos donde el PLA sea la matriz polimérica modificada o reforzada con diferentes tipos de partículas. Dentro de este campo, el material más estudiado y que ha presentado propiedades muy interesantes es la hidroxiapatita. Como se ha descrito anteriormente, la hidroxiapatita (HA) es un material cerámico cuya composición química es de fosfato cálcico, el componente inorgánico más similar al hueso y dientes de los vertebrados. Está considerado el material bioactivo ideal y posee las características apropiadas en términos de no toxicidad y biocompatibilidad, además de ser osteoconductor y tener buenas propiedades de osteointegración. Por otro lado, es un componente biodegradable que no compromete la biodegradabilidad del PLA, además de aportar bioactividad a la matriz de PLA y mejorar la viabilidad celular [48] [49]. Una de las propiedades más estudiadas son las mecánicas del compuesto. Shikinami *et al.* [50] mezclan el PLA en disolución con partículas de 20  $\mu\text{m}$  entre un 20 y 50% en masa y obtienen mejoras en los módulos elásticos, pero empeorando la resistencia en todos los casos menos a torsión. Russias *et al.* [51] mezclan mediante disolución el PLA con partículas de HA de dos tamaños ( $< 25$  y  $< 8$   $\mu\text{m}$ ), en proporciones desde 50 hasta 80% en masa, para luego obtener piezas mediante termopresión con un módulo elástico de 3 a 10 GPa, medido mediante curvas de nanoindentación. Otros autores han mostrado numerosos resultados sobre las propiedades mecánicas que presentan estos materiales compuestos, un breve resumen de algunas de ellas se presentan en la Tabla 1.1. El refuerzo que produce esta carga en el PLA parece requerir de la adición de una gran cantidad de inorgánico. Un ejemplo sería Liu *et al.* [52] que no observan un aumento ni de la resistencia a la tracción ni del módulo a tracción con la adición de un 2% de carga, lo cual se asocia con la falta de adhesión matriz-carga.

Se han producido ciertos avances en términos de modificación de la interfaz polímero carga para mejorar estos resultados. Akindoyo *et al.* [53] obtienen compuestos PLA/HA mediante el mezclado por extrusión donde analizan el módulo y la resistencia con hasta un 20% de carga observando un aumento de aproximadamente 1 GPa en el caso del módulo, aunque una pérdida considerable (20MPa) en la resistencia. Con el fin de obtener una mejora de estas propiedades, realizaron un tratamiento superficial de las



partículas con un dispersante que contiene grupos fosfato e hidroxilos, obteniendo así una mejora del 25% en la resistencia a la tracción y un 18% en el módulo. Este fenómeno lo asocian a la mejor dispersión de la carga en la matriz, así como a un aumento de enlaces puente de hidrógeno entre la HA y el PLA debido a los grupos polares que ahora presentan las partículas. Otros autores también han estudiado y modificado la interfaz PLA/HA como método para mejorar sus propiedades mecánicas [54] [55].

Tabla 1.1. Propiedades mecánicas de compuestos base PLA cargados con diferentes partículas. Se indica la carga o refuerzo del PLA, el tipo de mezclado que se ha llevado a cabo, el % en masa del refuerzo, el tamaño de partícula de refuerzo, el rango de módulo elástico o resistencia en orden de aumento de carga.

Compuesto	% refuerzo	Tamaño partícula (μm)	Módulo Elástico (GPa)	Resistencia (MPa)	Ref.
PLA/HA (D)	20-50	<20	4,8-6,5 (comp)	124-115(comp)	[56]
			1,3-2,4 (trac)	154-103 (trac)	
			6,5-12,3 (tors)	259-268 (tors)	
PLA/HA (D)	50 - 80	< 25 y < 8	3-10	60-130 (tors)	[51]
PLA/HA (E)	2	< 1	~2,5 (DMTA)	60-70 (trac)	[52]
PLA/HA (E)	5-20	<50	3,4-4,3(trac)	65-48 (trac)	[53]
			3,2-4,3(tors)	106-86(tors)	
PLA/mHA (E)	10	<50	4,7 (trac)	69 (trac)	[53]
			4,8 (tors)	115(tors)	
PLA/HA (E)	1-5	nano	0.5-0.6(trac)	55-46 (trac)	[57]
PLA/mHA (E)	5-30	nano	0.5-0.6(trac)	55-60 (trac)	[57]
PLA/HA (D)	10	nano	-	62-63 (trac)	[58]
PLA/mHA (D)	10	nano	-	62-71 (trac)	[58]

D: mezclado en disolución, E: mediante extrusión,  
Tracción (trac), torsión (tors) o compresión (comp)

Como se puede observar, son numerosos los autores que estudian este tipo de compuestos e intentan mejorarlos. Además de los parámetros de medida (velocidad de deformación) que influyen en los resultados de propiedades mecánicas, algunos de los factores condicionantes son el tipo de polímero, el porcentaje de refuerzo y el tamaño de partícula.

El método que permite añadir más carga a la matriz de PLA es mediante disolución y por tanto es donde se obtiene el mayor porcentaje de mejora de los parámetros estudiados. Por último, cabe destacar las grandes mejoras que se consiguen cuando se realiza una modificación a la partícula, mediante el uso de modificante como polietilenimina (PEI), 3-aminopropiltrietoxilano (APTES) y sulfato n-dodecil sódico (SDS), para mejorar la interfaz polímero-cerámico.

Tabla 1.2. Propiedades mecánicas de compuestos base PLA cargados con diferentes partículas. Se indica la carga o refuerzo del PLA, el tipo de mezclado que se ha llevado a cabo, el % en masa del refuerzo, el tamaño de partícula de refuerzo, el rango de módulo elástico o resistencia en orden de aumento de carga.

Compuesto	% refuerzo	Tamaño partícula (μm)	Módulo Elástico (GPa)	Resistencia (MPa)	Ref.
PLA/α-TCP (S)	25	100-200	3,7-4,8 (trac)	73-54 (trac)	[59]
PLA/β-TCP (E)	0-30	< 50	3,1-3,6 (tors)	131-123 (tors)	[60]
PLA/β-TCP (E)	nm	0-20	3,4-5,6 (trac)	71-59 (trac) 121-85 (tors)	[61]
PLA/mβ-TCP (E)	nm	0-20	3,4-5,5	71-65 (trac) 121-102 (tors)	[61]

S: mezclado en seco, E: mediante extrusión,  
Tracción (trac), torsión (tors) o compresión (comp)

Existen otros fosfatos cálcicos utilizados como refuerzo del PLA como son los fosfatos tricálcicos (TCP), que presentan tres formas cristalinas características, aunque únicamente la  $\alpha$  y  $\beta$  son utilizadas para biomateriales. Es un material cerámico altamente osteoconductor, bioabsorbible, usado para implantes en reconstrucción ósea o injertos. Suelen emplearse como carga de materiales porosos dotando a la matriz de bioactividad y aumentando la tenacidad mientras que conserva su resistencia [62], [63]. Kunze *et al.* [59] mezclan en seco TCP y PLA para posteriormente moldear piezas donde obtienen, añadiendo un 25% en masa de carga, un aumento de 3,67 a 4,86 GPa en el módulo a tracción aunque disminuye en 30 MPa la resistencia. Por otro lado, Damadzadeh *et al.* [60] estudian el módulo y la resistencia a torsión con partículas de menos de 50 μm añadiendo un 20% en masa de carga, y observan un aumento del módulo de 3,1 a 3,6 GPa aunque con una leve disminución de la resistencia de 131 a

123 MPa. La estrategia para mejorar las propiedades mecánicas de estos compuestos fue semejante a la llevada a cabo con la hidroxiapatita: modificación superficial de las partículas para mejorar la interacción TCP-PLA. Ma *et al.* [61] modifican el TCP mediante el uso de ácido esteárico y lo mezclan con el PLA en fundido, manteniendo aproximadamente sus valores de módulo elástico con respecto a las partículas no modificadas y aumentando de 63 a 69 MPa la resistencia a tracción. La Tabla 1.2 resume todas las propiedades anteriormente mencionadas para facilitar su comparación.

Las conclusiones para estos materiales son similares a las de los compuestos PLA/HA. En general la mejora se produce en el módulo elástico mientras que la resistencia disminuye aunque de manera menos notable al caso del PLA/HA. La modificación superficial del refuerzo de nuevo parece ser la mejor vía para conseguir mejoras reseñables.

Otra carga inorgánica que suele utilizarse para variar las propiedades del PLA es el biovidrio o Bioglass®, aunque en menor medida que los otros compuestos estudiados. Hasta la fecha es el material conocido más bioactivo, además de ser capaz de producir hidroxiapatita *in-situ*, libera cierta cantidad de iones de Si y Ca que regulan un total de siete grupos de genes que proporcionan propiedades osteogénicas al material [64]. Suele utilizarse para compuestos de PLA porosos, de esta manera este material produce un aumento de la viabilidad celular del PLA, además de reforzar la matriz [65], [66].

Como se puede observar, la principal estrategia abordada por los investigadores para mejorar el PLA es mejorando sus propiedades mecánicas mediante la adición de un componente bioactivo a la matriz de manera que también se solvente ese inconveniente. Por otro lado, también se han abordado otros problemas como la mejora de la baja hidrofiliidad del PLA. Abdal-hay *et al.* [67] y Zou *et al.* [68] obtienen una mejora razonable de la hidrofobicidad del PLA mediante la adición de un 10-30% de HA y un 15% de  $\beta$ -TCP en masa, respectivamente.

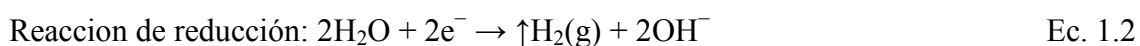
Por último, la estrategia llevada a cabo para solventar la falta de grupos terminales que permitan la modificación o el anclaje de otros compuestos al polímero, es la de la modificación de la carga que se añade al polímero. Tanto en el caso de la HA como en el del TCP, se realiza su modificación superficial ya sea por su reacción con otros componentes y la creación de un enlace covalente o por la adsorción de moléculas con

grupos reactivos. Estos cambios fomentan la interacción PLA-partícula mejorando en todos los casos la dispersión de la misma y por consiguiente sus propiedades mecánicas.

Resumiendo, el único aspecto en el cual estos materiales no mejoran las propiedades del PLA es en la degradación. Al ser partículas degradables pero no de alta reactividad no llegan a disminuir notablemente la degradación de estos polímeros, o al menos aún se está muy lejos de poder modular la pérdida de propiedades del mismo para coordinarlo con el tejido que se intenta reparar [69].

## **1.4 Materiales compuestos PLA/Mg**

El magnesio es el cuarto elemento más abundante en el cuerpo humano, es fundamental en el metabolismo y necesario en más de 300 reacciones bioquímicas en el cuerpo. A nivel bioquímico, el magnesio está involucrado en el metabolismo energético, la síntesis de proteínas, la función muscular, nerviosa y el sistema inmunológico y juega un papel vital en la formación de hueso [70], [71]. Por otro lado, el magnesio está considerado el material estructural más reactivo y es susceptible de múltiples formas de degradación como la disolución, la corrosión local o el agrietamiento por corrosión bajo tensión [72]. Por todas estas razones, el Mg es un material con gran potencial para ser utilizado en biomateriales, y debido a su reactividad su principal aplicación es para implantes temporales biodegradables. Las correspondientes reacciones con el agua se muestran a continuación:



El concepto de utilizar un material metálico muy reactivo como el Mg para el diseño de implantes no permanentes es aparentemente simple, ya que se aprovecha esa característica intrínseca del material, sin embargo, en detalle, los procesos de corrosión son muy complejos [73]. Esmaily *et al.* [74] hacen en su trabajo una revisión de numerosos estudios sobre la corrosión del Mg y sus aleaciones enfocándolo también hacia la biodegradación del metal. En este caso, vamos a presentar únicamente la degradación del Mg puro, dividido en corrosión atmosférica, en medio acuoso y, por último, en medios simulados durante ensayos *in vitro*.

La corrosión atmosférica de este metal no ha sido tan investigada como su corrosión durante la inmersión en agua, aun así en la bibliografía se encuentran varios trabajos

que estudian los cambios producidos en el Mg por la exposición al aire. Nordlien *et al.* [75], [76] describen, mediante el análisis con microscopía electrónica de transmisión del corte transversal de sus muestras, una capa de MgO densa sobre la superficie del Mg, que evoluciona hacia su forma hidratada ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) por la exposición a la humedad atmosférica. Por otro lado, Feliu *et al.* [77], [78] analizan, mediante espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS), microscopía electrónica de barrido (MEB) y ganancia de masa, una película de MgO,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  y una pequeña cantidad de carbonato de magnesio, formado por la exposición al  $\text{CO}_2$  atmosférico, que parece aumentar con respecto al óxido conforme aumenta el tiempo de exposición.

Los mecanismos de pasivación/corrosión del Mg en un medio acuoso han sido objeto de estudio por la extraordinaria relevancia de este material, debido a su baja densidad y sus excelentes prestaciones mecánicas. Santamaría *et al.* [79] y Liu *et al.* [80] fueron los primeros en describir la doble capa formada por MgO/ $\text{Mg}(\text{OH})_2$  a temperatura ambiente en solución acuosa en una amplia gama de valores de pH (pH 6-14) desde varios minutos hasta 2 horas de inmersión. Los resultados obtenidos por ambos autores son similares. Mediante técnicas espectroscópicas (Espectroscopia Foto-electrónica de Rayos X, XPS, y espectroscopía de foto-corriente, PCS), en primer lugar comprueban la existencia de una bicapa de MgO/ $\text{Mg}(\text{OH})_2$  antes de la inmersión, como ya se estudió en la corrosión atmosférica, donde la primera capa densa es de MgO cúbica, y debido a la hidratación con el  $\text{H}_2\text{O}$  ambiental, reacciona dando una capa porosa de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  hexagonal, cuyo volumen es el doble del óxido. Cabe destacar que algunos autores asocian este aumento de volumen a la ruptura de la doble capa, creando grietas y dejando Mg desnudo expuesto de nuevo a la corrosión del medio [81]. Una vez se produce la inmersión, tiene lugar un crecimiento de la capa de hidróxido (del orden de nm) por procesos de disolución-precipitación, cuyo espesor es función del tiempo de inmersión de la superficie de Mg en el medio líquido, y del pH del agua.

Taheri *et al.* [82] describen, mediante la relación atómica por espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS) de Mg/O y microscopía combinada de electrones e iones focalizados (FIB), la bicapa después de 48h de inmersión en agua, formada por una primera capa externa de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  relativamente fina (700 nm) y porosa que se forma sobre una capa más fina (50-100 nm) y porosa de nanocristales de MgO. Mediante MEB describen el mecanismo de formación del hidróxido, ya que las micrografías muestran la cristalización de la fase  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  en forma de placas que ya

ha sido asociada al mecanismo de formación de disolución-precipitación. Por otro lado, Unocic *et al.* [72], mediante espectroscopía de masa de iones secundarios (SIMS), XPS y TEM, observan una capa de 10  $\mu\text{m}$  principalmente de MgO, parcialmente hidratada. Estudiando las diferencias que se observan entre los resultados publicados por Taheri, describen cómo puede variar el espesor, la porosidad y/o la composición de la bicapa en función de factores como el tamaño de grano, la preparación de la superficie o el volumen de disolución (relacionado con la saturación de especies en el medio) donde se introduce la muestra.

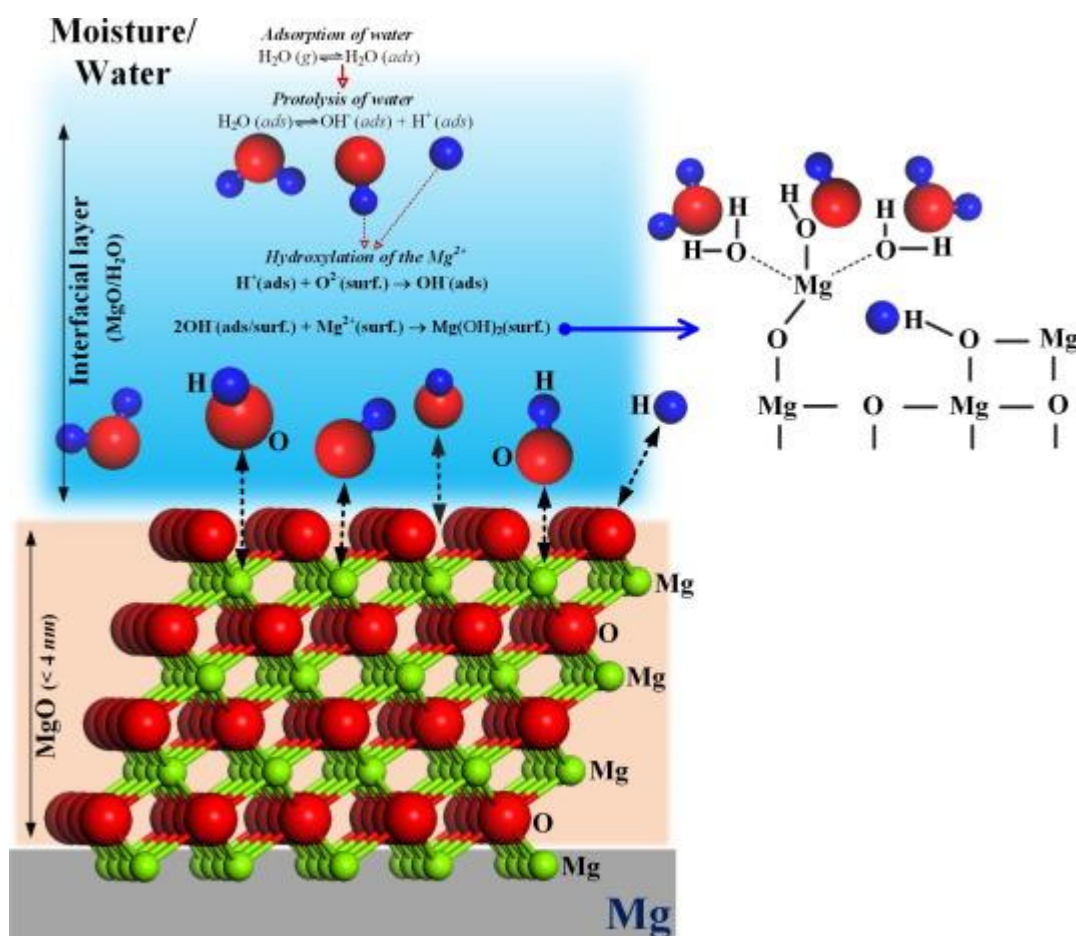


Figura 1.3. Esquema representativo de la hidroxilación del MgO en superficie según describe Esmaily *et al.* [74]

El estudio de la corrosión en medio acuoso se puede ampliar, mediante la variación del pH, a medios ácidos o alcalinos. El interés de estos ensayos se debe a que la capacidad protectora de la bicapa formada sobre el Mg depende del pH, siendo esta más protectora en medios alcalinos. Badawy *et al.* [83] realizan ensayos a 180 min a pH 2, 7 y 12 y comprueban que las velocidades de corrosión del Mg en disolución ácida son el triple que en soluciones neutras y más de 28 veces que en soluciones básicas. En este sentido,

Taheri *et al.* [84] caracterizaron la degradación o corrosión del Mg a pH alcalinos (NaOH 1M, pH 14) y encontraron un grado de degradación mucho menor de las muestras al de las de pH neutro, ya que el recubrimiento de hidróxido no se extendía por toda la superficie de la muestra. Aun así, debido a que la morfología del recubrimiento es similar a la observada a pH más ácidos, proponen el mismo mecanismo de formación de la doble capa, mecanismo de disolución-precipitación, para todos los casos.

La reacción del Mg en medios simulados permite estudiar la biodegradación del metal a nivel de laboratorio en una solución más parecida a la del cuerpo humano, la cual difiere considerablemente de la de un medio acuoso puro. El medio simulado *in vitro* consiste en una disolución de NaCl con varias especies disueltas  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{CO}_4^{3-}$ , a un pH 7,4 tamponado mediante sistemas  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ . Esto produce ciertos cambios con respecto a la inmersión en agua en la superficie del metal, como la precipitación de fosfatos de calcio debido a la alcalinización del medio, o la incorporación de carbonatos y sales tipo  $\text{MgCl}_2$  [74]. Muchos autores que consideran esta corrosión no comparable con ensayos *in vivo*, aunque en el caso de este metal, Sanchez *et al.* [85] muestran que tanto el Mg como algunas de sus aleaciones presentan mucha similitud en términos de corrosión en ensayos *in vitro* e *in vivo*. Esta similitud entre ambos ensayos se debe principalmente a que en el caso del Mg, el medio favorece su reacción tanto por el pH (ligeramente básico) como por la presencia de iones muy agresivos como los  $\text{Cl}^-$ , lo que podría producir que se compensen las diferencias que existen entre los ensayos *in vitro* e *in vivo*. A la hora de estudiar esta corrosión *in vitro*, los ensayos no electroquímicos más extendidas son la pérdida de masa, la liberación de  $\text{H}_2$  y la variación de pH.

La pérdida de masa es una medida indirecta del grado de corrosión del metal y varía dependiendo del medio simulado que se utilice y la forma y tamaño de la muestra. La liberación de  $\text{H}_2$ , sin embargo, es una medida del comportamiento a corrosión del Mg durante la reacción de reducción. La liberación y acumulación de hidrógeno que produce un biomaterial base Mg es un factor limitante en su uso. El valor descrito en la bibliografía tolerado por el cuerpo humano es de 2,25 ml/cm<sup>2</sup>/día de  $\text{H}_2$ . El magnesio puro a 37 °C en SBF (*Simulated body fluid*) libera al día de media 40 ml/cm<sup>2</sup>/día [86]. Son numerosos los autores que trabajan en diferentes maneras de controlar la liberación de hidrógeno del Mg para aprovechar las buenas propiedades que posee intentando inhibir su alta reactividad. Se han estudiado varias vías como añadir aleantes o mediante recubrimientos para controlar la corrosión. Un ejemplo son las aleaciones M1A y AZ31

estudiadas por Wang *et al.* [87] y Yibin *et al.* [88], que midieron la velocidad de degradación y observaron un comportamiento similar, donde los inicios de la inmersión eran más reactivos, hasta llegar a un *plateau* en la liberación de hidrógeno a las 25h, después de liberar 3 ml/cm<sup>2</sup>, y 80 h 0,15 ml/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Esto indica que los aleantes añadidos al Mg varían notablemente su degradación *in vitro* restringiendo cuáles materiales son aptos para su uso o no. Aleaciones como Mg-0,8Ca, ZQ63 y ZQ71 liberan 7,58; 4,6 y 2,90 ml/cm<sup>2</sup>/día respectivamente [86], o 1,69 ml/cm<sup>2</sup>/día para aleaciones Mg-1Ca [89].

Por último, la variación de pH del medio también es un parámetro vital para comprender la degradación de los biomateriales base Mg. La gran mayoría de cationes metálicos tienen naturaleza ácida, y, por lo tanto, durante la hidrólisis de su respectivo metal tienden a contrarrestar el cambio a pH alcalino resultante de la reacción de reducción. Sin embargo, el catión Mg<sup>2+</sup> muestra un carácter casi neutro, por lo que el cambio a pH alcalino no será neutralizado por la reacción de hidrólisis del catión Mg [73]. Este comportamiento puede convertirse en un problema porque los biomateriales deben ser lo suficientemente estables a la corrosión como para no sobrepasar la capacidad tampón del medio *in vivo*.

Durante los últimos años los materiales compuestos de PLA/Mg han surgido como nuevos biomateriales bioabsorbibles para aplicaciones de osteosíntesis. Se ha propuesto la incorporación de partículas de Mg dentro de una matriz basada en un polímero biodegradable que se utiliza actualmente para aplicaciones de osteosíntesis, de manera que se ha desarrollado un nuevo biomaterial que pueda abordar, por un lado, la falta de bioactividad y las bajas propiedades mecánicas de los polímeros y, por otro, la alta tasa de degradación o corrosión del Mg y sus aleaciones. La primera patente que proporcionó una prueba de concepto fue la patente española WO 2011/161292A1 presentada por González-Carrasco *et al.* [90] y el primer artículo científico de Cifuentes *et al.* [91] que probó la mejora de las propiedades mecánicas del polímero al añadir un 30% en masa de carga de Mg mediante disolución. Cifuentes *et al.* [92] en 2017, así como Sezer *et al.* [93], en 2018, muestran una revisión de los últimos estudios realizados acerca de este compuesto.

Mientras que Cifuentes *et al.* [91] y Brown *et al.* [94] encuentran una mejora en las propiedades a compresión tanto en materiales densos como en materiales porosos, Wan



*et al.* [95] no obtienen mejoras en la resistencia a la tracción de sus materiales PLLA/Mg. La degradación de estos compuestos *in vitro* también ha sido estudiada por diversos autores en varios medios simulados, entre ellos Cifuentes *et al.* [96], Zhao *et al.* [97] y Li *et al.* [98]. En estos artículos se demuestra que la incorporación de partículas de Mg a una matriz de PLA previene la acidificación del medio debido a la degradación del polímero. Por otro lado, tanto Cifuentes *et al.* [96] para materiales densos, como Shuai *et al.* [99] para *scaffolds* de PLA/Mg, han demostrado su buena tasa de degradación. El PLA tiene tiempos de degradación demasiado lentos para igualar la tasa de crecimiento del hueso, lo que limita su aplicación en el trasplante óseo. Sin embargo, los resultados obtenidos indicaron que la introducción de partículas de Mg, al elevar el pH del medio, acelera la degradación de los compuestos, lo que abre una vía de desarrollo de estos prometedores compuestos

En cuanto a la biocompatibilidad, Brown *et al.* [94], Cifuentes *et al.* [100] y Fernández-Calderon *et al.* [101] demuestran la biocompatibilidad de los compuestos mediante ensayos *in vitro* con células mesenquimales. Los estudios ponen en evidencia que los compuestos no son citotóxicos y que aumentan la proliferación celular y la inducción inicial a la osteogénesis. Por otro lado, se ha comprobado que se reduce la formación de biopelículas de *S. epidermidis* sin comprometer la citocompatibilidad del material.

## 1.5 Técnicas de procesado

Son numerosas las técnicas que han sido estudiadas para el procesado de compuestos de matriz polimérica. Cada una de ellas cuenta con sus propias ventajas y limitaciones y es más o menos escalable a la industria, pero todas son de interés por su aplicabilidad en al menos un tipo de compuesto. Las técnicas de procesado tienen diferentes funciones, desde el mezclado de los componentes del compuesto (matriz y carga) al de conformado para dar la forma final al material.

Las técnicas de mezclado y de conformado más utilizadas en el caso de materiales compuestos basados en polímeros termoplásticos son las de mezclado y conformado en estado fundido. Existen dos grupos de mezcladores, los discontinuos, como los mezcladores internos, y los continuos, donde destaca la extrusión. En el caso del conformado los más importantes son el moldeo por inyección, el moldeo por soplado y el moldeo por compresión [102]. Los métodos de procesado del PLA más comunes también son los procesados en fundido, adaptándose siempre a sus aplicaciones finales

y a su limitación, al ser un polímero que se degrada térmicamente [103]. En el caso de los compuestos base PLA, tanto el procesado como el equipamiento dista poco de las técnicas utilizadas para procesar el polímero sin carga [104].

La extrusión es la técnica de mezclado más empleada para compuestos cuya matriz es con termoplástico, y más en concreto en el caso del PLA, y son numerosos los autores que utilizan este tipo de equipos para mezclar uno o más componentes en una matriz de PLA [105] [106], variando las especificaciones según el tipo de PLA, la naturaleza de la carga, los requerimientos finales del material y el tipo de extrusora. Las extrusoras pueden contar con uno o más husillos, estos pueden rotar en el mismo sentido o en sentido opuesto y pueden ir acopladas a diferentes técnicas de procesado. Las técnicas más comunes son el moldeo por compresión [42], [107] y el moldeo por inyección [17], [53], pero la propia extrusión se puede adaptar para dar forma final al material que se está procesando, estas técnicas se denominan extrusión de película plana o film [12] y extrusión por soplado en film [108]. La extrusión tiene la ventaja de ser un proceso en continuo, además de ser rápido y no utilizar disolventes orgánicos contaminantes, por lo que facilita su escalado al sector industrial. Otro método también utilizado aunque menos extendido es el del mezclador interno [109], [110] que como ya se ha comentado es un método discontinuo para la mezcla de polímeros con diferentes cargas, mediante la aplicación de cizalla y temperatura.

La principal desventaja de los procesos que requieren de la fusión del PLA para procesarlo es la degradación térmica a la que se somete el polímero. El método más común es mediante apertura de anillo (ROP) de las lactidas, esta reacción es un equilibrio que depende de la temperatura, por lo que puede revertirse y dar la despolimerización térmica del PLA. Se ha comprobado que la degradación del PLA es muy compleja y se produce por varias reacciones como son la hidrólisis, la degradación oxidativa y la transesterificación. Como consecuencia de estas reacciones, cuando el PLA es sometido a un procesado en fundido se produce una indeseada bajada de su peso molecular [29]. Esta pérdida de peso molecular desemboca en un cambio en las propiedades del polímero, térmicas o mecánicas, dependiendo de si la técnica utilizada es más o menos agresiva. En el caso de la extrusión se ha encontrado una relación directa entre la reducción del peso molecular del polímero con el tiempo de residencia en el equipo y la temperatura [111].

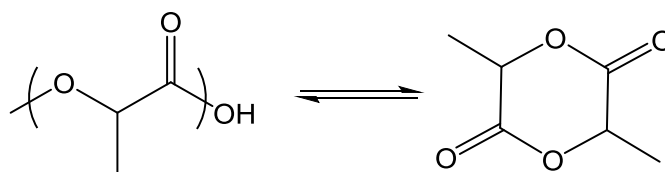


Figura 1.4. Equilibrio de reacción entre el PLA y la lactida

Dentro de las rutas de procesamiento mediante fundido, cabe destacar la emergente tecnología del prototipado rápido (PR), manufactura aditiva (AM) o impresión 3D, donde el material es construido capa a capa y permite obtener en un solo paso la forma final diseñada por CAD (*computer-aided design*). Son varias técnicas que se han desarrollado y tienen una gran aplicabilidad en el campo de la biomedicina, ya que podemos obtener una pieza final personalizada, adaptada al paciente, reduciendo notablemente los costes de otro tipo de técnicas al no ser necesario el uso de moldes. Dentro de estas técnicas se distinguen el modelado por deposición fundida (FDM), proceso muy utilizado para la impresión 3D de piezas poliméricas donde un filamento se funde y pasa a través de una boquilla; la estereolitografía (SLA), que utiliza como aditivo de procesamiento una resina fotocurable que reacciona mediante una fuente de luz para dar lugar a la pieza; y la sinterización selectiva por láser (SLS), en el cual se deposita una capa de polvo que es sinterizado/fundido en los puntos seleccionados mediante el uso de un láser [112]. El PLA es el polímero más utilizado, especialmente en el caso del FDM, por sus características termoplásticas [113] y en la actualidad se están desarrollando numerosas líneas de investigación para poder conformar mediante AM compuestos base PLA con diferentes aplicaciones [114][115].

Como alternativa a las rutas comunes de procesamiento que requieren una primera etapa de fusión del polímero, surgen las rutas basadas en disolución. Estas se utilizan comúnmente en el laboratorio, donde no se requiere el uso de una gran cantidad de material. A diferencia de las técnicas basadas en temperatura, el polímero se disuelve en un disolvente orgánico para procesarlo y posteriormente secarlo a vacío o a la temperatura de evaporación del disolvente, es por ello que estas técnicas no inducen la degradación térmica del polímero y las viscosidades con las que se trabajan son de 2 ó 3 órdenes de magnitud menor. Esta es una técnica muy versátil que permite obtener una gran variedad de materiales con diferentes formas, ya sean *scaffolds*, dispositivos de liberación de fármacos o *films* porosos. Existen diferentes técnicas que requieren el primer paso de disolver el polímero para posteriormente conformar el material final, la

más conocida es la colada desde disolución (*solvent casting*) [116], [117]. Otras técnicas serían el electrohilado (*electrospinning*), para la fabricación de fibras que se depositan en un colector originando un material mallado [118]; y el recubrimiento mediante la inmersión de un sustrato en una disolución polimérica [119]. En disolución también hay numerosas rutas en las que se lleva a cabo una polimerización del ácido láctico *in situ* para procesar el material compuesto [120]. La principal desventaja de estas técnicas sigue siendo el uso de una gran cantidad de disolventes orgánicos. En el caso de la aplicación biomédica se requiere de un buen método para eliminar el disolvente residual que podría producir cierto grado de toxicidad [121]. En cuanto a la dispersión de la carga en la matriz, Narimissa *et al.* [122], con el uso de DRX y TEM y mediante la comparación con materiales procesados por extrusión, demuestran que con este proceso (en su caso colada desde disolución), se obtiene una mayor dispersión de la carga en la matriz.

Son muchos los parámetros que se pueden modular para conseguir una dispersión más homogénea de partículas o nanopartículas en matrices poliméricas. Jouault *et al.* [123] modifican el medio orgánico utilizado para procesar compuestos de nanopartículas de sílica para conseguir la adsorción de un polímero (polivinilpiridina) en superficie. Estos autores observan que la creación de una capa de este polímero en la superficie de la sílice produce la repulsión entre las nanopartículas, evitando la formación de aglomerados y mejorando la dispersión. Sin embargo, Cheng *et al.* [124] estudian varios parámetros de los que depende la dispersión de las partículas, como es la afinidad polímero-partícula o la velocidad de secado de los materiales. Concluyen que aunque a priori una buena interacción polímero-partícula pueda asociarse con una buena dispersión del material, en el caso de que sean inmiscibles aún se puede conseguir una buena dispersión del material final utilizando el secado como estrategia de mejora. Por otra parte Kim *et al.* [125] estudian la correlación que existe entre la estructura de compuestos en estado líquido y en estado sólido después de su secado. El disolvente en este caso es acuoso por lo que estudian el cambio de pH como medio para mejorar la dispersión del material final, aunque finalmente concluyen que las mejoras que observan se deben a que el cambio de pH fomenta la afinidad polímero-partícula. Zhou *et al.* [126] recogen una revisión de las disoluciones de partículas coloidales con polímeros y los diferentes parámetros a tener en cuenta del proceso de secado y conformado.

El principal problema que se plantea en estos trabajos es que la mejora de la dispersión durante el procesado por vía húmeda requiere normalmente de la modificación superficial de las partículas o carga inorgánica. Los artículos anteriormente citados son ejemplos de estas modificaciones superficiales, con partículas ideales de sílice, las cuales se alejan del comportamiento de otro tipo de partículas metálicas o cerámicas que se degradan en medios acuosos e incluso orgánicos. La química coloidal es la encargada del estudio del comportamiento químico y coloidal de estas partículas en medio acuoso, ya que define tanto las fuerzas de interacción partícula-partícula como partícula-medio.

## **1.6 Dispersión coloidal**

Una suspensión coloidal o dispersión coloidal es un sistema formado por dos o más fases, normalmente una fluida (líquido) y otra dispersa en forma de partículas, generalmente sólidas, con diámetros inferiores a 1  $\mu\text{m}$ . La fase dispersa es la que se halla en menor proporción, y la fase continua es líquida, pero pueden encontrarse coloides cuyos componentes se encuentran en otros estados de agregación de la materia. La química coloidal estudia las interacciones partícula-líquido, partícula-partícula que tienen lugar en el seno de una suspensión. Y si bien por lo general se denomina coloide a una partícula con diámetro inferior a 100 nm, las suspensiones de partículas de diámetros superiores reciben también el nombre de suspensiones coloidales, ya que las fuerzas de interacción entre las especies en suspensión se mantienen en el rango nanométrico (por lo general de decenas de nN).

Se denomina Procesamiento Coloidal al conjunto de técnicas de conformado y compactación de partículas que precisan de una etapa previa de preparación de suspensiones coloidales. Durante esta etapa de preparación, se lleva a cabo la adecuación química de la superficie del coloide que en ocasiones precisa de su modificación superficial. En nuestro caso, como ya hemos comentado anteriormente, para preparar materiales compuestos de matriz polimérica es imprescindible mezclar y dispersar correctamente la carga con el polímero matriz, por lo que al proceder al mezclado coloidal de las partículas, cargas inorgánicas o coloides en la disolución del sistema polimérico, aprovecharemos la capacidad de adecuar superficialmente la partícula para hacerla más compatible con el medio de dispersión.

En materiales inorgánicos, son numerosos los beneficios de un mezclado coloidal o en suspensión, pero sobre todo destaca el elevado grado de homogeneidad en la dispersión

que alcanza la mezcla. Una buena dispersión de las diferentes fases de un material en su matriz, promueve la reducción de defectos antes de la sinterización o un elevado grado de compactación de polvo o alta densidad en verde, mejorando las propiedades mecánicas del material final [127]. También en el ámbito de las propiedades térmicas, una buena dispersión puede llegar a modificar la conducción térmica del material [128] o disminuir la temperatura de la sinterización del mismo [129]. Por último, también las propiedades superficiales del material, ya sea la hidrofobicidad o la hidrofiliidad, así como la tensión superficial, pueden modificarse si se parte de una mezcla más homogénea.

### **1.6.1 Dispersión y estabilización de partículas**

#### **1.6.1.1 Estabilidad química y potencial zeta**

La estabilidad de los sistemas coloidales está determinada por la energía neta de diferentes interacciones, las cuales como ya hemos comentado pueden darse tanto entre las partículas como entre las partículas y el medio. Las interacciones, o fuerzas generadas por la tendencia que tiene una suspensión coloidal a alcanzar su equilibrio electroquímico, pueden ser de atracción o de repulsión. La estabilidad coloidal está gobernada por tanto por el sumatorio de todas estas interacciones, que define el potencial de energía total de interacción interparticular ( $V_{\text{total}}$ ):

$$V_{\text{total}} = V_{\text{atracción}} + V_{\text{repulsión}} \quad \text{Ec. 1.3}$$

En este sumatorio se recogen la interacción de tipo van de Waals ( $V_{\text{vdw}}$ ), la única de carácter atractivo, y las energías potenciales de repulsión, como es la fuerza de interacción electrostática entre superficies cargadas con el mismo signo ( $V_{\text{el}}$ ). Las fuerzas atractivas o Fuerzas de van der Waals se forman debido a los dipolos instantáneos inducidos formados en la carga electrónica en las partículas, son fuerzas débiles que adquieren especial relevancia en distancias cortas.

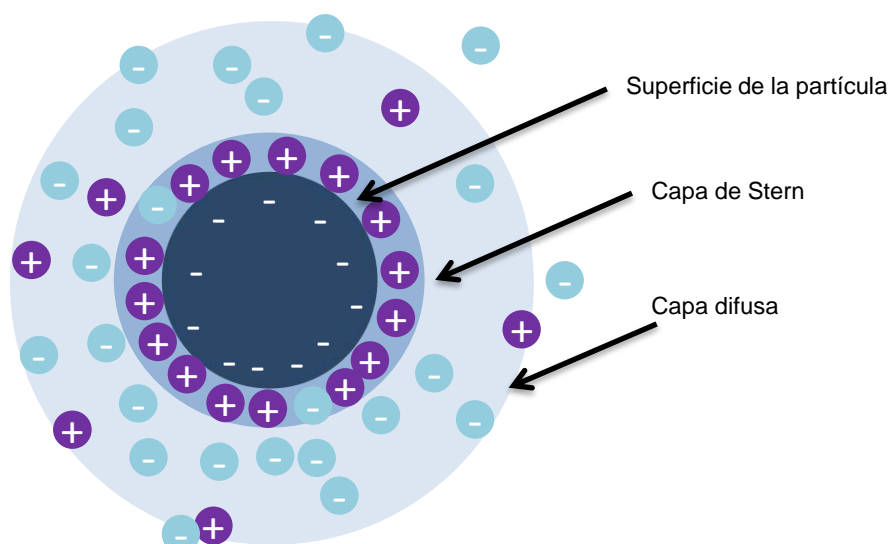


Figura 1.5. Esquema representativo de la doble capa formada una vez se añade una partícula a un medio acuoso.

Las fuerzas electrostáticas de repulsión, en conjunto con las fuerzas de van der Waals, constituyen la teoría de la doble capa eléctrica o DVLO. Esta teoría establece que cuando una partícula inorgánica se introduce en un medio polar, se carga superficialmente debido a procesos de ionización y/o adsorción de iones. Como consecuencia de esto, ya que es condición necesaria que el sistema mantenga la electroneutralidad, se forma una doble capa iónica para contrarrestar la carga. La primera capa es la denominada capa rígida o capa de Stern y está formada por los contra-iones adsorbidos a la superficie, desplazando los co-iones. La anchura de esta capa está limitada al espesor de una monocapa, por lo tanto no siempre es suficiente para llegar a la electroneutralidad del medio, por lo que se genera una segunda capa paralela denominada capa difusa, la cual se asemeja a una nube o atmósfera de contra-iones y co-iones que compensan la carga del coloide. El espesor de la doble capa es proporcional a la estabilidad coloidal del sistema, de manera que conforme mayor sea esta capa mayor serán las fuerzas de repulsión entre partículas favoreciendo la estabilidad. En la Figura 1.5 se muestra una representación esquemática de la doble capa eléctrica para un coloide cargado negativamente donde se puede observar cómo varía la concentración de co- y contra-iones con la distancia a la partícula.

La estabilidad coloidal de partículas en medios acuosos es función de las diferentes energías que actúan en el sistema, tanto de repulsión como de atracción, y mediante la modificación y el control de estas energías se puede mejorar la estabilidad, la dispersión

y evitar la formación de aglomerados, y la floculación del sistema. Para determinar la estabilidad de la suspensión en función de este balance energético es necesario tener un parámetro de referencia que determine la carga superficial de las partículas coloidales, que en este caso es el potencial zeta. El potencial zeta se define como el valor del potencial eléctrico en el plano de cizalla que divide la capa de Stern y la capa difusa, y por lo tanto es una medida indirecta de la carga superficial. Está definido por medidas de movilidad electrocinéticas mediante la ecuación Helmholtz-Smoluchowski:

$$\zeta = \frac{\eta \mu_e}{\epsilon \epsilon_0 \epsilon_s} f(a)$$

Ec. 1.4

donde  $\eta$  es la viscosidad del medio continuo,  $\epsilon$  es el campo eléctrico aplicado (condicionado por la conductividad de la muestra),  $\epsilon_0$  la permitividad en el vacío,  $\epsilon_s$  la permitividad en el medio continuo y  $f(a)$  es un algoritmo en función de la partícula. El valor del potencial zeta depende tanto de la naturaleza de la partícula como de las condiciones del medio de dispersión. Un mayor valor en el potencial zeta de una partícula implica un mayor espesor en su doble capa y por tanto mayor repulsión y estabilidad en la dispersión.

El potencial zeta depende en gran medida de las reacciones ácido-base de las superficies de las partículas, por lo que varía con el pH del medio. Existen dos puntos característicos que definen el estado superficial de la partícula en el medio líquido, el punto isoeléctrico, el valor de pH para el cual el valor del potencial zeta se hace cero, y el punto de carga nula, cuando las cargas positivas de la superficie son iguales a las cargas negativas, es el punto de máxima inestabilidad del sistema.

### 1.6.1.2 Mecanismos de estabilidad coloidal

Una vez se ha definido la química superficial de un sólido cuando se añade a un medio acuoso, se deben estudiar los diferentes mecanismos de estabilidad utilizados. El primer mecanismo sería el electroestático que se ha definido con anterioridad, el cual se rige por la teoría de la doble capa y es función de la energía de interacción del sistema partícula-medio. En el caso de los metales no nobles, que desarrollan una capa de pasivación a ciertos pH, la electroneutralidad depende además de la forma en la que se preserva la estabilidad química del metal. La estabilidad química a su vez define la reactividad superficial entre partículas y con otras especies disueltas en el medio.



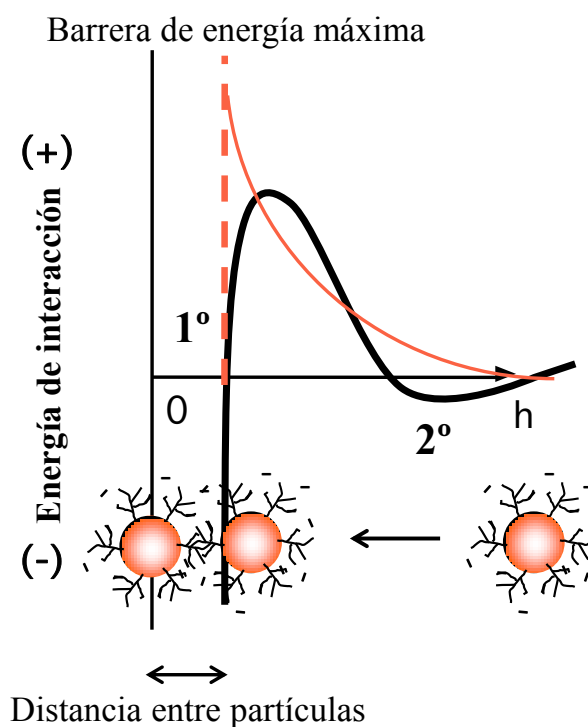


Figura 1.6. Gráfica de la energía potencial frente a la distancia de dos partículas

A finales de los 80, tras el pleno desarrollo de la DLVO, se establecieron otros tipos de mecanismos de estabilización de suspensiones, basados en la adsorción de moléculas o aditivos, que a día de hoy son los más empleados para aumentar y mantener la estabilidad coloidal [130], [131]. La modificación superficial de las partículas en suspensión mediante la adición de estabilizantes, por lo general poliméricos, genera otro tipo de fuerzas repulsivas de tipo estérico, que favorecen la estabilidad tanto química como coloidal de las suspensiones. En la Figura 1.6 se observa una curva de energía potencial o energía de interacción entre dos partículas de un sistema coloidal. Las fuerzas de atracción provocan la aparición de dos mínimos de energía potencial (curva negra); el mínimo primario (1°), donde el sistema floclula y las partículas entran en contacto físico formando aglomerados fuertes, y el secundario (2°), o mínimo de coagulación, donde las partículas se mantienen separadas por la capa iónica o capa rígida, y forman agregados suaves de fácil redispersión. La adsorción de aditivos en la superficie de las partículas proporciona un impedimento físico al acercamiento de las superficies, lo que elimina el mínimo primario estabilizando el sistema en distancias cortas de interacción, y creando una barrera de energía de repulsión máxima entre partículas. Estos aditivos estabilizantes pueden clasificarse en función de si son adsorbidos en superficie (Figura 1.7a) o no (Figura 1.7b y c).

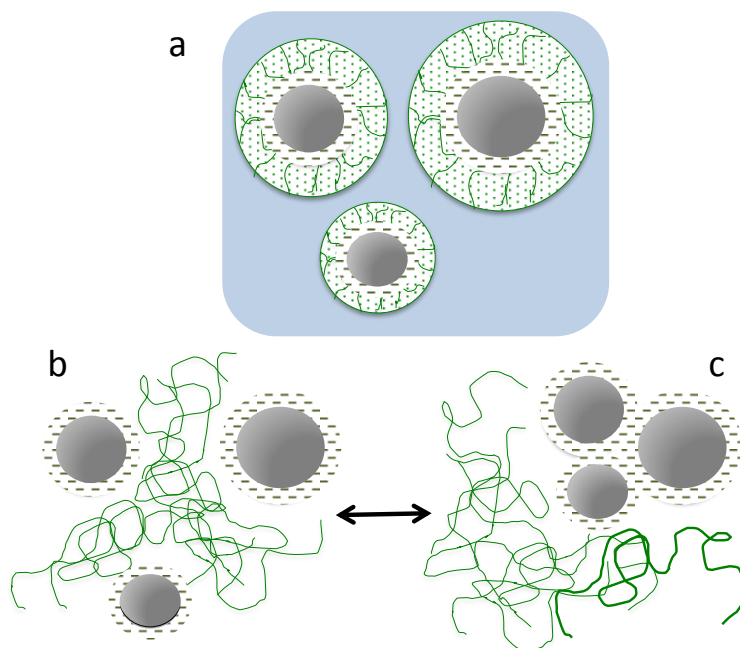


Figura 1.7. Esquema de la adsorción de un aditivo en superficie (a) y de los fenómenos de depleción tanto estabilizantes (b) como desestabilizantes (c).

Aunque un polímero no se adsorba en superficie puede generar fuerzas repulsivas denominadas fuerzas de depleción que pueden ser de carácter estabilizante o de carácter desestabilizante. Este fenómeno suele darse en polímeros de alto peso molecular o cuando la concentración del polímero es alta en la suspensión. Por otro lado existen diferentes aditivos que nos permiten modificar la superficie de partículas, ya sean moléculas orgánicas como la urea, el quitosano, la queratina, la gelatina, el ácido cítrico o el ácido nitrilotriacético, o macromoléculas como los polímeros polietilenimina, el ácido poliacrílico o el polietilenglicol (Figura 1.8).

Los aditivos que se adsorben en superficie se pueden clasificar según su carga y según su estructura. Según su carga se dividen en catiónicos, donde destacan los que presentan grupos amina ( $-\text{NH}_4^+$ ), aniónicos, los que presentan grupos carboxilos ( $-\text{COO}^-$ ), tioles ( $-\text{SH}^-$ ) y fosfonatos ( $-\text{PO}_3\text{H}_2^-$ ), y zwitteriones, que presentan ambos grupos en su estructura molecular. Algunos ejemplos de este tipo de dispersantes pueden observarse en la Figura 1.8. Todos los grupos funcionales de estas cadenas o moléculas orgánicas son dependientes del pH para encontrarse protonados o desprotonados, lo cual define la forma de interaccionar con las superficies de las partículas coloidales en suspensión. A día de hoy, aún no se ha definido con precisión los tipos de anclaje que se originan entre estos grupos funcionales y la superficie de las partículas, aunque en el caso de los

grupos amina, hidroxilo y carboxilo gran parte de esta interacción se produce por medio de enlaces de hidrógeno.

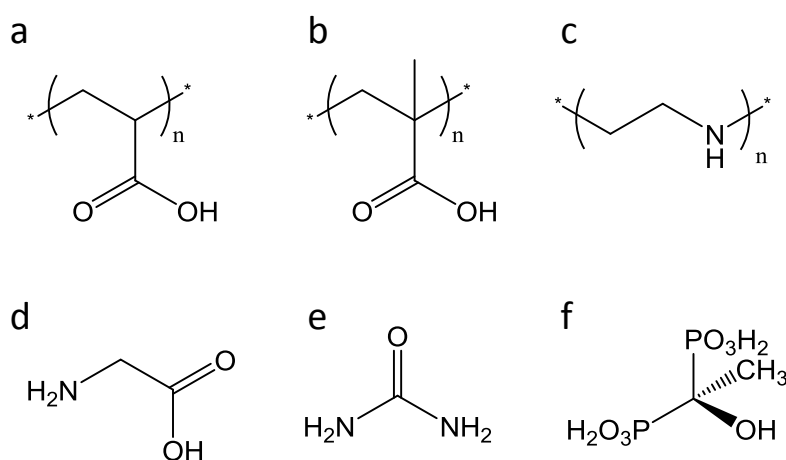


Figura 1.8. Estructuras de algunos aditivos dispersantes. ácido poliacrílico (a) ácido polimetacrílico (b) polietilenamina (c) gelatina (d) urea (e) ácido hidroxietilendifosfónico (HEDP) (f)

La estabilidad de las suspensiones coloidales varía según el tipo de aditivo que se utilice como dispersante, que no solo se caracteriza por su grupo funcional, sino también por su estructura molecular. La estabilización estérica es otra de las vías para controlar la estabilidad coloidal en sistemas acuosos, y en cuyo caso es necesario el uso de ciertas estructuras moleculares, mostradas en la Figura 1.9. Hay una gran diferencia entre la adsorción de moléculas pequeñas y la adsorción de macromoléculas, ya que la estructura de las macromoléculas permite una gran variedad de configuraciones. En esta figura se muestran diferentes tipos de aditivos adsorbidos en superficie variando su estructura molecular, como un homopolímero, un polímero compuesto por un único tipo de monómero (Figura 1.9a), un copolímero de dos bloques, con dos tipos de monómero (Figura 1.9b), un copolímero de tipo peine, donde un bloque del copolímero es lineal y se adsorbe en superficie mientras que los otros bloques aparecen como ramificaciones del primero (Figura 1.9c), y por último, un dispersante de cadena corta cuyo ejemplo más representativo es un surfactante o tensoactivos (Figura 1.9d) [107].

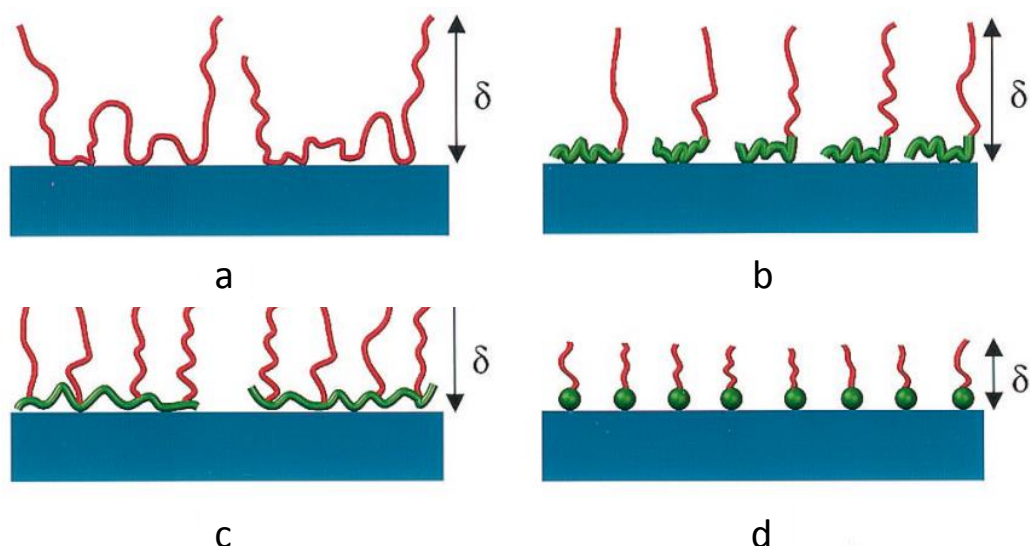


Figura 1.9. Esquema representativo de diferentes aditivos adsorbidos en superficie variando su estructura molecular. Homopolímero (a) copolímero de dos bloques (b) copolímero de tipo peine (c) dispersante de cadena corta tipo surfactante (d), siendo  $\delta$  el espesor de la capa de estabilización.[132]

En orden de importancia, después de la repulsión estérica se encuentran diferentes fuerzas asociadas al anclaje de diferentes compuestos en la superficie de las partículas. Leong *et al.* [133] recogen en su revisión las fuerzas no basadas en la DLVO más importantes como el modelo de *charge patch*, la fuerza hidrofóbica o por enlaces o puentes. Los dos tipos de compuestos más utilizados con este fin son los surfactantes que crean fuerzas hidrofóbicas y los polielectrolitos, que crean interacciones electroestéricas. Los surfactantes son moléculas que presentan una parte hidrofílica iónica o no y otra hidrofóbica, que normalmente es una cadena alquílica larga lineal o ramificada (Figura 1.9d). Los polielectrolitos son polímeros de cadena larga, lineales o ramificados, que presentan carga en toda su estructura en función de la ionización de sus grupos funcionales (Figura 1.9a).

Los polielectrolitos son polímeros cuyas unidades repetitivas tienen un grupo ionizable que se disocia en disoluciones acuosas, haciendo que los polímeros se carguen. La primera clasificación de este tipo de polímeros sería en base a la carga que presenta su cadena, si presentan grupos con tendencia a cargarse positivamente son policationes y si lo hacen negativamente polianiones. Si presentan grupos de ambas cargas se les denominan polímeros anfotéricos o zwitteriones [134]. Los grupos susceptibles de ser ionizados son los mismos grupos que producen el anclaje con la superficie de la partícula, y que dependiendo del pH del medio y los pKa de los diferentes grupos

funcionales (si los hubiese) presenta una mayor o menor carga. A raíz de esto, los polielectrolitos se pueden dividir en fuertes y débiles, en función de si se disocia por completo en la solución para la mayoría de los valores de pH, o por el contrario, si se disocia parcialmente a ciertos pH y no están completamente cargados en disolución. De esta carga no solo son responsables los tipos de grupos funcionales de cadena sino la conformación que presenta el polielectrolito.

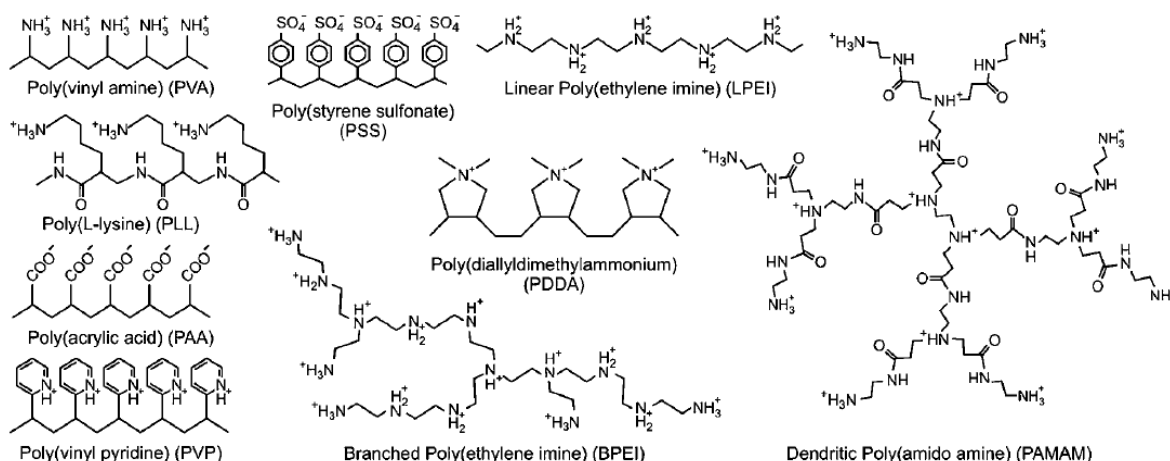


Figura 1.10. Ejemplo de varios polielectrolitos lineales, ramificados y de tipo dendrítico [135].

En la Figura 1.10 se muestran varios ejemplos de polielectrolitos en su forma ionizada, donde se observan las tres estructuras principales que presentan estos polímeros, la lineal como el ácido polacrílico o la polivinilamina, la ramificada como la polietilenimina ramificada y la dendrítica como la poliamidoamina [135].

Este tipo de estabilizantes o aditivos estabilizan las superficies utilizando tanto fuerzas estéricas, principalmente la mostrada en la Figura 1.9a ya que los polielectrolitos más utilizados son los homopolímeros, como electrostáticas de repulsión por la carga que presentan. La conformación superficial o estérica además depende de su estado de ionización o carga, es decir, los polielectrolitos adsorbidos pueden adquirir dos tipos de conformación. La primera sería la conformación estirada o *tail*, en la cual el polímero se encuentra altamente ionizado, y por tanto las cargas de sus cadenas se repelen entre sí provocando una elevada repulsión electrostática. La segunda sería la conformación plegada o *train*, en la cual el polielectrolito está débilmente ionizado, y sus cadenas sufren poca repulsión entre sí, replegándose sobre la superficie. Ambas conformaciones se muestran en la Figura 1.11.

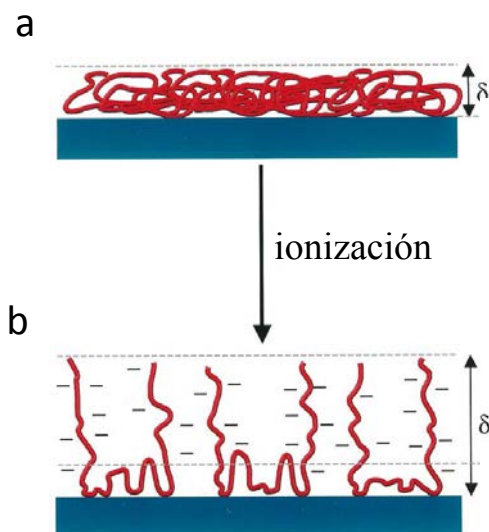


Figura 1.11. Conformación de polielectrolitos adsorbidos en superficie, la primera es la conformación plegada debido a la falta de carga del aditivo (a) y la segunda desplegada debido a la alta ionización (b) [132].

Los tensoactivos o surfactantes poseen una estructura química característica que consiste principalmente en dos partes diferenciadas: (i) el componente que tendrá poca afinidad con el disolvente, que suponiendo que sea agua sería la parte hidrófoba, normalmente una cadena hidrocarbonada y (ii) la unidad que sí tiene afinidad, la hidrofílica. Este tipo de compuestos presentan una amplia variedad de estructuras químicas disponibles que pueden ser clasificadas de varias maneras. Uno de los esquemas más comunes se basa en la clasificación por la aplicación en cuestión, de modo que los surfactantes se pueden clasificar como emulsionantes, agentes espumantes, agentes humectantes, dispersantes o similares, sin embargo, esta clasificación no dice mucho sobre su naturaleza química. En este aspecto, el esquema más útil es el de su carácter iónico del grupo hidrofílico, al igual que ocurría con los grupos iónicos de los polielectrolitos. Por tanto diferenciamos los surfactantes en aniónico, siendo grupo hidrófilo negativo tal como el grupo carboxilo ( $-\text{COO}^-$ ), sulfonato ( $-\text{SO}_3^-$ ), sulfato ( $-\text{OSO}_3^-$ ) o fosfato ( $-\text{PO}_3^-$ ); catiónico, con el grupo hidrófilo cargado positivamente, como por ejemplo, los grupos amina y amina sustituidos ( $-\text{NH}_4^+$  o  $-\text{NR}_4^+$ ); no iónico, donde el hidrófilo no tiene carga pero posee un grupo altamente polar capaz de interaccionar con el medio, como polioxietileno ( $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ), azúcares o grupos similares; y por último los surfactantes que presentan un grupo anfótero (o zwitteriónico), en el cual la molécula tiene una carga negativa y otra positiva en la cadena principal como las sulfobetainas,  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$  [136].

Las propiedades físicas de los surfactantes difieren de las que presentan moléculas más pequeñas o no anfóteras principalmente en los cambios abruptos que experimentan en sus propiedades por encima de una concentración crítica en disolución. A bajas concentraciones, la mayoría de las propiedades son similares a las de un electrolito simple, sin embargo, a cierta concentración, estas moléculas se asocian entre sí por sus extremos hidrófobos que corresponden a las cadenas hidrocarbonadas, mientras que sus extremos hidrófilos, aquellos que llevan los grupos ionizados, se repelen entre sí. Estas estructuras autoensambladas se denominan micelas. La concentración a la que se produce este fenómeno de asociación se conoce como concentración crítica de micelas (c.m.c.), que es característica de cada compuesto y condiciones de disolución (pH, conductividad iónica, temperatura, etc.). Dentro de cualquier clase de tensoactivo, el c.m.c. disminuye al aumentar la longitud de la cadena de la parte hidrófoba [137].

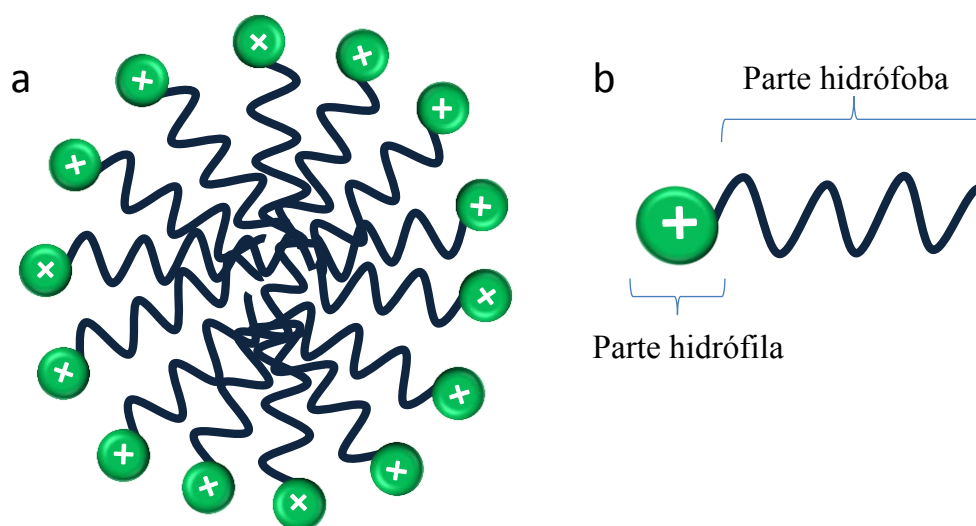


Figura 1.12. Esquema representativo de una micela creada con surfactantes catiónicos (a) y estructura de un surfactante catiónico con sus dos partes diferenciadas: la hidrofílica y la hidrofóbica.

El uso de surfactantes aniónico o catiónico ha sido reconocido como la forma más efectiva de mejorar la dispersión coloidal de partículas cerámicas en medio líquido [138]. Este tipo de aditivos anfóteros se adsorben como muestra la Figura 1.9d, con las cabezas polares hacia la superficie ionizada, dejando las colas hidrófobas expuestas hacia la disolución y creando una micela inversa que envuelve la partícula. Este tipo de aditivos producen una alta cobertura de la superficie, por lo que presentan cierta ventaja si se utilizan con superficies altamente reactivas, y además presentan una alta repulsión estérica. Sin embargo, si el disolvente utilizado para poner en suspensión las partículas

es agua, el uso de surfactante presenta ciertos problemas de inmiscibilidad. Esto se debe a que si bien una pequeña cantidad de surfactante puede producir fuerzas de repulsión, al aumentar el contenido en disolución se crean diferentes interacciones atractivas entre las cadenas carbonadas hidrófobas hasta llegar a formarse estructuras en forma de bicapa o multicapa de surfactantes [139], como muestra la Figura 1.13.

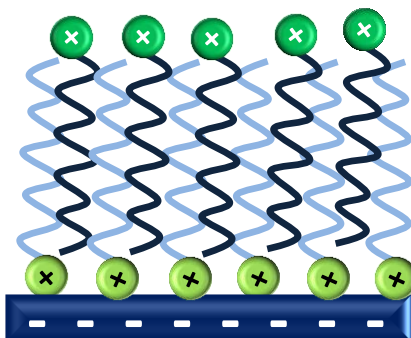


Figura 1.13. Esquema representativo de una doble capa de surfactantes catiónicos adsorbidos sobre una superficie negativa

Son varios los autores que utilizan este tipo de moléculas como aglomerantes de nanopartículas para su correcta eliminación o separación. Liu *et al.* [140] describen la agregación de nanopartículas de sílice mediante el uso de un surfactante catiónico (bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB)). Proponen diferentes mecanismos como de neutralización de carga, y por tanto la pérdida de la fuerza electrostática de repulsión, y el efecto hidrofóbico, de unión o puente entre las colas de hidrocarburo de CTAB para justificar esta agregación.

El uso de estos aditivos se recomienda cuando la dispersión se lleva a cabo en un medio apolar, donde la cabeza hidrófila pueda estar adsorbida en la superficie de las partículas y las cadenas estén abiertas al medio afín a ellas.



## Bibliografía

- [1] C. P. Bergmann and A. Stumpf, “Biomaterials - Dental Ceramics,” C. Bergmann and A. Stumpf, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, pp. 9–13.
- [2] M. Navarro, A. Michiardi, O. Castaño, and J. A. Planell, “Biomaterials in orthopaedics,” *J. R. Soc. Interface*, vol. 5, no. 27, pp. 1137–1158, 2008.
- [3] J. Acero, J. Calderon, J. I. Salmeron, J. J. Verdager, C. Concejo, and M. L. Somacarrera, “The behaviour of titanium as a biomaterial: microscopy study of plates and surrounding tissues in facial osteosynthesis,” *J. Cranio-Maxillofacial Surg.*, vol. 27, no. 2, pp. 117–123, 1999.
- [4] J. Nagels, M. Stokdijk, and P. M. Rozing, “Stress shielding and bone resorption in shoulder arthroplasty,” *J. Shoulder Elb. Surg.*, vol. 12, no. 1, pp. 35–39, 2003.
- [5] J. C. Middleton and A. J. Tipton, “Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices,” *Biomaterials*, vol. 21, no. 23, pp. 2335–2346, 2000.
- [6] F. Gannon, J. Hunter, P. Habecker, and L. A. Whitaker, “An experimental study of the effects of craniofacial growth on the long-term positional stability of microfixation,” *J. Craniofac. Surg.*, vol. 7, no. 1, pp. 64–68, 1996.
- [7] L. Wong, “The effect of rigid fixation on growth of the neurocranium,” *Plast. Reconstr. Surg.*, vol. 88, no. 3, pp. 395–403, 1991.
- [8] W. Cao and L. L. Hench, “Bioactive materials,” *Ceram. Int.*, vol. 22, no. 6, pp. 493–507, 1996.
- [9] J. Park and R. S. Lakes, *Biomaterials: An introduction: Third edition*. 2007.
- [10] R. Gilbert Triplett and O. Budinskaya, “New Frontiers in Biomaterials,” *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.*, vol. 29, no. 1, pp. 105–115, 2017.
- [11] Z. Sheikh, S. Najeeb, Z. Khurshid, V. Verma, H. Rashid, and M. Glogauer, “Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications,” *Materials (Basel)*, vol. 8, no. 9, pp. 5744–5794, Sep. 2015.
- [12] C. Godavitarne, A. Robertson, J. Peters, and B. Rogers, “Biodegradable materials,” *Orthop. Trauma*, vol. 31, no. 5, pp. 316–320, 2017.
- [13] L. Tan, X. Yu, P. Wan, and K. Yang, “Biodegradable Materials for Bone Repairs: A Review,” *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 29, no. 6, pp. 503–513, 2013.
- [14] Y. F. Zheng, X. N. Gu, and F. Witte, “Biodegradable metals,” *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 77, pp. 1–34, 2014.
- [15] H. Li, Y. Zheng, and L. Qin, “Progress of biodegradable metals,” *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.*, vol. 24, no. 5, pp. 414–422, 2014.
- [16] B. Liu and Y. F. Zheng, “Effects of alloying elements (Mn, Co, Al, W, Sn, B, C and S) on biodegradability and in vitro biocompatibility of pure iron,” *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 3, pp. 1407–1420, 2011.

- [17] M. P. Staiger, A. M. Pietak, J. Huadmai, and G. Dias, "Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review.," *Biomaterials*, vol. 27, no. 9, pp. 1728–34, Mar. 2006.
- [18] G. Eddy, J. Poinern, S. Brundavanam, and D. Fawcett, "Biomedical Magnesium Alloys: A Review of Material Properties, Surface Modifications and Potential as a Biodegradable Orthopaedic Implant," *Am. J. Biomed. Eng.*, vol. 2, no. 6, pp. 218–240, 2012.
- [19] T. B. Matias, G. H. Asato, B. T. Ramasco, W. J. Botta, C. S. Kiminami, and C. Bolfarini, "Processing and characterization of amorphous magnesium based alloy for application in biomedical implants," *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 3, no. 3, pp. 203–209, 2014.
- [20] "<http://www.syntellix.de/>."
- [21] C. E. Tanase and I. Spiridon, "PLA/chitosan/keratin composites for biomedical applications," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 40, pp. 242–247, Jul. 2014.
- [22] H. Tian, Z. Tang, X. Zhuang, X. Chen, and X. Jing, "Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, no. 2, pp. 237–280, 2012.
- [23] I. Manavitehrani, A. Fathi, H. Badr, S. Daly, A. Negahi Shirazi, and F. Dehghani, "Biomedical Applications of Biodegradable Polyesters," *Polymers*, vol. 8, no. 1, 2016.
- [24] P. B. Maurus and C. C. Kaeding, "Bioabsorbable implant material review," *Oper. Tech. Sports Med.*, vol. 12, no. 3, pp. 158–160, 2004.
- [25] A. Weiler, H.-J. Helling, U. Kirch, T. K. Zirbes, and K. E. Rehm, "Foreign-body reaction and the course of osteolysis after polyglycolide implants for fracture fixation: Experimental study in sheep," *J. Bone Jt. Surg.*, vol. 78–B, pp. 369–376, 1996.
- [26] P. U. Rokkanen, O. Böstman, E. Hirvensalo, E. A. Mäkelä, E. K. Partio, H. Päätiälä, S. Vainionpää, V. Kimmo, and P. Törmälä, "Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology," *Biomaterials*, 2000. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961200001289>.
- [27] K. M. Nampoothiri, N. RajendranNair, and R. PappyJohn, "An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 22, pp. 8493–8501, Nov. 2010.
- [28] L. Yu, K. Dean, and L. Li, "Polymer blends and composites from renewable resources," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 31, no. 6, pp. 576–602, 2006.
- [29] R. Auras, L. T. Lim, S. E. M. Selke, and H. Tsuji, *Poly-lactic acid. Synthesis, Structures, Properties, and Applications*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [30] K. Van de Velde and P. Kiekens, "Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications," *Polym. Test.*, vol. 21, no. 4, pp. 433–442, 2002.

- [31] A.-M. Clarinval and J. Halleux, “1 - Classification of biodegradable polymers A2 - Smith, Ray BT - Biodegradable Polymers for Industrial Applications,” Woodhead Publishing, 2005, pp. 3–31.
- [32] K. Van de Velde and P. Kiekens, “Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications,” *Polym. Test.*, vol. 21, no. 4, pp. 433–442, 2002.
- [33] “<http://www.klsmartin.com/products/implants-and-implant-systems/>.”
- [34] “<http://proxybiomedical.com/bio-xt-reinforced-resorbable-implants/>.”
- [35] “<http://www.rescoll-medical.com/development-4/product-development/composite-implants/>.”
- [36] “<http://www.vbm.fr/en/>.”
- [37] R. M. Rasal, A. V Janorkar, and D. E. Hirt, “Poly(lactic acid) modifications,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 35, no. 3, pp. 338–356, 2010.
- [38] S. Farah, D. G. Anderson, and R. Langer, “Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 107, pp. 367–392, Dec. 2016.
- [39] J. E. Bergsma, W. C. de Bruijn, F. R. Rozema, R. R. M. Bos, and G. Boering, “Late degradation tissue response to poly(l-lactide) bone plates and screws,” *Biomaterials*, vol. 16, no. 1, pp. 25–31, 1995.
- [40] X. Zhu, T. Zhong, R. Huang, and A. Wan, “Preparation of hydrophilic poly(lactic acid) tissue engineering scaffold via (PLA)-(PLA-b-PEG)-(PEG) solution casting and thermal-induced surface structural transformation,” *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 26, no. 17, pp. 1286–1296, Nov. 2015.
- [41] U. Jon, G. Gonzalo, and E. J. Ignacio, “Melt processed PLA/PCL blends: Effect of processing method on phase structure, morphology, and mechanical properties,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 132, no. 41, 2015.
- [42] A. K. Pal and V. Katiyar, “Melt processing of biodegradable poly(lactic acid)/functionalized chitosan nanocomposite films: mechanical modeling with improved oxygen barrier and thermal properties,” *J. Polym. Res.*, vol. 24, no. 10, p. 173, Sep. 2017.
- [43] J. C. Antunes, J. M. Oliveira, R. L. Reis, J. M. Soria, J. L. Gómez-Ribelles, and J. F. Mano, “Novel poly(L-lactic acid)/hyaluronic acid macroporous hybrid scaffolds: Characterization and assessment of cytotoxicity,” *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 9999A, no. 3, p. NA-NA, Sep. 2010.
- [44] B. N. Teixeira, P. Aprile, R. H. Mendonça, D. J. Kelly, and R. M. S. M. Thiré, “Evaluation of bone marrow stem cell response to PLA scaffolds manufactured by 3D printing and coated with polydopamine and type I collagen,” *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 0, no. 0, Feb. 2018.
- [45] P. Coline, G. Christian, N. Benjamin, R. Capucine, H. Sylvie, C. Jean, and G. Xavier, “In vivo evaluation of hybrid patches composed of PLA based

- copolymers and collagen/chondroitin sulfate for ligament tissue regeneration,” *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 105, no. 7, pp. 1778–1788, May 2016.
- [46] S. Isarankura Na Ayutthaya, S. Tanpichai, W. Sangkhun, and J. Wootthikanokkhan, “Effect of clay content on morphology and processability of electrospun keratin/poly(lactic acid) nanofiber,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 85, no. Supplement C, pp. 585–595, 2016.
  - [47] A. Aluigi, A. Corbellini, F. Rombaldoni, M. Zoccola, and M. Canetti, “Morphological and structural investigation of wool-derived keratin nanofibres crosslinked by thermal treatment,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 57, pp. 30–37, 2013.
  - [48] X. H. Wang, S. Shi, G. Guo, S. Z. Fu, M. Fan, F. Luo, X. Zhao, Y. Q. Wei, and Z. Y. Qian, “Preparation and characterization of a porous scaffold based on poly(D,L-lactide) and N-hydroxyapatite by phase separation,” *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 22, no. 14, pp. 1917–1929, 2011.
  - [49] W. A. Ribeiro Neto, I. H. L. Pereira, E. Ayres, A. C. C. De Paula, L. Averous, A. M. Góes, R. L. Oréfice, and R. E. Suman Bretas, “Influence of the microstructure and mechanical strength of nanofibers of biodegradable polymers with hydroxyapatite in stem cells growth. Electrospinning, characterization and cell viability,” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 97, no. 10, pp. 2037–2051, 2012.
  - [50] Y. Shikinami and M. Okuno, “Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics,” *Biomaterials*, vol. 20, no. 9, pp. 859–877, 1999.
  - [51] J. Russias, E. Saiz, R. K. Nalla, K. Gryn, R. O. Ritchie, and A. P. Tomsia, “Fabrication and mechanical properties of PLA/HA composites: A study of in vitro degradation,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 26, no. 8, pp. 1289–1295, 2006.
  - [52] X. Liu, T. Wang, L. C. Chow, M. Yang, and J. W. Mitchell, “Effects of inorganic fillers on the thermal and mechanical properties of poly(lactic acid),” *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2014, 2014.
  - [53] J. O. Akindoyo, M. D. H. Beg, S. Ghazali, H. P. Heim, and M. Feldmann, “Effects of surface modification on dispersion, mechanical, thermal and dynamic mechanical properties of injection molded PLA-hydroxyapatite composites,” *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 103, pp. 96–105, Dec. 2017.
  - [54] F. M. Michael, C. T. Ratnam, M. Khalid, S. Ramarad, and R. Walvekar, “Surface modification of nanohydroxyapatite and its loading effect on polylactic acid properties for load bearing implants,” *Polymer Composites*. John Wiley and Sons Inc., Department of Chemical and Environmental Engineering University of Nottingham Malaysia Campus Jalan Broga Semenyih 43500 Selangor Malaysia, 2017.
  - [55] G. Huang, Z. Du, Z. Yuan, L. Gu, Q. Cai, and X. Yang, “Poly(L-lactide) nanocomposites containing poly(D-lactide) grafted nanohydroxyapatite with improved interfacial adhesion via stereocomplexation,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 78, pp. 10–19, 2018.

- [56] Y. Shikinami and M. Okuno, "Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics," *Biomaterials*, vol. 20, no. 9, pp. 859–877, 1999.
- [57] F. M. Michael, C. T. Ratnam, M. Khalid, S. Ramarad, and R. Walvekar, "Surface modification of nanohydroxyapatite and its loading effect on polylactic acid properties for load bearing implants," *Polymer Composites*. John Wiley and Sons Inc., Department of Chemical and Environmental Engineering University of Nottingham Malaysia Campus Jalan Broga Semenyih 43500 Selangor Malaysia, 2017.
- [58] G. Huang, Z. Du, Z. Yuan, L. Gu, Q. Cai, and X. Yang, "Poly(L-lactide) nanocomposites containing poly(D-lactide) grafted nanohydroxyapatite with improved interfacial adhesion via stereocomplexation," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 78, pp. 10–19, 2018.
- [59] C. Kunze, T. Freier, E. Helwig, B. Sandner, D. Reif, A. Wutzler, and H.-J. Radusch, "Surface modification of tricalcium phosphate for improvement of the interfacial compatibility with biodegradable polymers," *Biomaterials*, vol. 24, no. 6, pp. 967–974, 2003.
- [60] B. Damadzadeh, H. Jabari, M. Skrifvars, K. Airola, N. Moritz, and P. Vallittu, "Effect of ceramic filler content on the mechanical and thermal behaviour of poly-L-lactic acid and poly-L-lactic-co-glycolic acid composites for medical applications," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 21, pp. 2523–2531, 2010.
- [61] F. Ma, S. Chen, P. Liu, F. Geng, W. Li, X. Liu, D. He, and D. Pan, "Improvement of  $\beta$ -TCP/PLLA biodegradable material by surface modification with stearic acid," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, pp. 407–413, 2016.
- [62] A. Rakovsky, I. Gotman, E. Rabkin, and E. Y. Gutmanas, " $\beta$ -TCP–polylactide composite scaffolds with high strength and enhanced permeability prepared by a modified salt leaching method," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 32, pp. 89–98, 2014.
- [63] L. Yanoso-Scholl, J. Jacobson, G. Bradica, A. Lerner, R. O'Keefe, E. Schwarz, M. Zuscik, and H. Awad, "Evaluation of dense polylactic acid/beta-tricalcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering," *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 95A, no. 3, pp. 717–726, Aug. 2010.
- [64] E. Rezabeigi, P. M. Wood-Adams, and R. A. L. Drew, "Synthesis of 45S5 Bioglass® via a straightforward organic, nitrate-free sol–gel process," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 40, pp. 248–252, Jul. 2014.
- [65] E. Rezabeigi, P. M. Wood-Adams, and R. A. L. Drew, "Morphological examination of highly porous polylactic acid/Bioglass® scaffolds produced via nonsolvent induced phase separation," *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 105, no. 8, pp. 2433–2442, Nov. 2017.
- [66] J. J. Blaker, V. Maquet, R. Jérôme, A. R. Boccaccini, and S. N. Nazhat, "Mechanical properties of highly porous PDLLA/Bioglass® composite foams as scaffolds for bone tissue engineering," *Acta Biomater.*, vol. 1, no. 6, pp. 643–652, 2005.

- [67] A. Abdal-Hay, F. A. Sheikh, and J. K. Lim, "Air jet spinning of hydroxyapatite/poly(lactic acid) hybrid nanocomposite membrane mats for bone tissue engineering," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 102, pp. 635–643, 2013.
- [68] J. Zou, X. B. Jiang, J. Zhang, Y. Shu, X. Chen, and F. Huang, "Preparation and characterization of surface-modified  $\beta$ -tricalcium phosphate/poly(L-lactide) biocomposites," *Advanced Materials Research*, vol. 197–198, pp. 120–126, 2011.
- [69] A. Naik, D. V. Shepherd, J. H. Shepherd, S. M. Best, and R. E. Cameron, "The effect of the type of HA on the degradation of PLGA/HA composites," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 70, pp. 824–831, 2017.
- [70] G. Manivasagam and S. Suwas, "Biodegradable Mg and Mg based alloys for biomedical implants," *Mater. Sci. Technol.*, vol. 30, no. 5, pp. 515–520, May 2014.
- [71] Q. Chen and G. A. Thouas, "Metallic implant biomaterials," *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 87, pp. 1–57, 2015.
- [72] K. A. Unocic, H. H. Elsentriecy, M. P. Brady, H. M. Meyer, G. L. Song, M. Fayek, R. A. Meisner, and B. Davis, "Transmission electron microscopy study of aqueous film formation and evolution on magnesium alloys," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 161, no. 6, pp. C302–C311, 2014.
- [73] S. Virtanen, "Biodegradable Mg and Mg alloys: Corrosion and biocompatibility," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 176, no. 20, pp. 1600–1608, 2011.
- [74] M. Esmaily, J. E. Svensson, S. Fajardo, N. Birbilis, G. S. Frankel, S. Virtanen, R. Arrabal, S. Thomas, and L. G. Johansson, "Fundamentals and advances in magnesium alloy corrosion," *Prog. Mater. Sci.*, vol. 89, pp. 92–193, 2017.
- [75] J. H. Nordlien, K. Nişancioğlu, S. Ono, and N. Masuko, "Morphology and structure of oxide films formed on MgAl alloys by exposure to air and water," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 143, no. 8, pp. 2564–2572, 1996.
- [76] J. H. Nordlien and K. Nişancioğlu, "Morphology and structure of oxide films formed on magnesium by exposure to air and water," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 142, no. 10, pp. 3320–3322, 1995.
- [77] S. Feliu, A. Pardo, M. C. Merino, A. E. Coy, F. Viejo, and R. Arrabal, "Correlation between the surface chemistry and the atmospheric corrosion of AZ31, AZ80 and AZ91D magnesium alloys," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 255, no. 7, pp. 4102–4108, 2009.
- [78] S. Feliu Jr., M. C. Merino, R. Arrabal, A. E. Coy, and E. Matykina, "XPS study of the effect of aluminium on the atmospheric corrosion of the AZ31 magnesium alloy," *Surf. Interface Anal.*, vol. 41, pp. 143–150, 2009.
- [79] M. Santamaria, F. Di Quarto, S. Zanna, and P. Marcus, "Initial surface film on magnesium metal: A characterization by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and photocurrent spectroscopy (PCS)," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 3, pp. 1314–1324, 2007.

- [80] M. Liu, S. Zanna, H. Ardelean, I. Frateur, P. Schmutz, G. Song, A. Atrens, and P. Marcus, "A first quantitative XPS study of the surface films formed, by exposure to water, on Mg and on the Mg–Al intermetallics: Al<sub>3</sub>Mg<sub>2</sub> and Mg<sub>17</sub>Al<sub>12</sub>," *Corros. Sci.*, vol. 51, no. 5, pp. 1115–1127, 2009.
- [81] H. B. Yao, Y. Li, and A. T. S. Wee, "XPS investigation of the oxidation/corrosion of melt-spun Mg," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 158, no. 1, pp. 112–119, 2000.
- [82] M. Taheri, R. C. Phillips, J. R. Kish, and G. A. Botton, "Analysis of the surface film formed on Mg by exposure to water using a FIB cross-section and STEM-EDS," *Corros. Sci.*, vol. 59, pp. 222–228, 2012.
- [83] W. A. Badawy, N. H. Hilal, M. El-Rabiee, and H. Nady, "Electrochemical behavior of Mg and some Mg alloys in aqueous solutions of different pH," *Electrochim. Acta*, vol. 55, no. 6, pp. 1880–1887, 2010.
- [84] M. Taheri and J. R. Kish, "Nature of surface film formed on mg exposed to 1 M NaOH," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 160, no. 1, pp. C36–C41, 2013.
- [85] A. H. M. Sanchez, B. J. C. Luthringer, F. Feyerabend, and R. Willumeit, "Mg and Mg alloys: How comparable are in vitro and in vivo corrosion rates? A review," *Acta Biomater.*, vol. 13, pp. 16–31, 2015.
- [86] A.-I. Bitá, A. Semenescu, A. Antoniac, and I. Antoniac, "Hydrogen evolution analyzed on various magnesium alloys," *Key Engineering Materials*, vol. 695, pp. 152–156, 2016.
- [87] Y. Wang, C. S. Lim, C. V Lim, M. S. Yong, E. K. Teo, and L. N. Moh, "In vitro degradation behavior of M1A magnesium alloy in protein-containing simulated body fluid," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 31, no. 3, pp. 579–587, 2011.
- [88] Y. Ren, J. Huang, B. Zhang, and K. Yang, "Preliminary study of biodegradation of AZ31B magnesium alloy," *Front. Mater. Sci. China*, vol. 1, no. 4, pp. 401–404, 2007.
- [89] X. N. Gu, N. Li, W. R. Zhou, Y. F. Zheng, X. Zhao, Q. Z. Cai, and L. Ruan, "Corrosion resistance and surface biocompatibility of a microarc oxidation coating on a Mg–Ca alloy," *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 4, pp. 1880–1889, 2011.
- [90] J. L. González-Carrasco, M. Multigner, M. Lieblich, M. Muñoz, E. Frutos, L. Saldaña, and N. Vilaboa, "Polymer and magnesium particle material for biomedical applications WO 2011/161292 A1," 2011.
- [91] S. C. Cifuentes, E. Frutos, J. L. González-Carrasco, M. Muñoz, M. Multigner, J. Chao, R. Benavente, and M. Lieblich, "Novel PLLA/magnesium composite for orthopedic applications: A proof of concept," *Mater. Lett.*, vol. 74, no. 0, pp. 239–242, 2012.
- [92] S. C. Cifuentes, R. Benavente, M. Lieblich, and J. L. González-Carrasco, "Biodegradable and bioabsorbable materials for osteosynthesis applications: State-of-the-art and future perspectives," in *Handbook of Composite from Renewable Materials; "Biodegradable Material" (Vol. V)*, WILEY-Scrivener Publishing LLC, 2017.

- [93] N. Sezer, Z. Evis, S. M. Kayhan, A. Tahmasebifar, and M. Koç, "Review of magnesium-based biomaterials and their applications," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 6, no. 1, pp. 23–43, 2018.
- [94] A. Brown, S. Zaky, H. Ray Jr, and C. Sfeir, "Porous magnesium/PLGA composite scaffolds for enhanced bone regeneration following tooth extraction," *Acta Biomater.*, vol. 11, no. 0, pp. 543–553, 2015.
- [95] P. Wan, C. Yuan, L. Tan, Q. Li, and K. Yang, "Fabrication and evaluation of bioresorbable PLLA/magnesium and PLLA/magnesium fluoride hybrid composites for orthopedic implants," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 98, no. 0, pp. 36–43, 2014.
- [96] S. C. Cifuentes, R. Gavilán, M. Lieblich, R. Benavente, and J. L. González-Carrasco, "In vitro degradation of biodegradable polylactic acid/magnesium composites: Relevance of Mg particle shape," *Acta Biomater.*, vol. 32, pp. 348–357, 2016.
- [97] C. Zhao, H. Wu, J. Ni, S. Zhang, and X. Zhang, "Development of PLA/Mg composite for orthopedic implant: Tunable degradation and enhanced mineralization," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 147, 2017.
- [98] X. Li, C. Chu, Y. Wei, C. Qi, J. Bai, C. Guo, F. Xue, P. Lin, and P. K. Chu, "In vitro degradation kinetics of pure PLA and Mg/PLA composite: Effects of immersion temperature and compression stress," *Acta Biomater.*, vol. 48, 2017.
- [99] C. Shuai, Y. Li, P. Feng, W. Guo, W. Yang, and S. Peng, "Positive feedback effects of Mg on the hydrolysis of poly-L-lactic acid (PLLA): Promoted degradation of PLLA scaffolds," *Polym. Test.*, vol. 68, pp. 27–33, 2018.
- [100] S. C. Cifuentes, F. Bensiamar, A. M. Gallardo-Moreno, T. A. Osswald, J. L. González-Carrasco, R. Benavente, M. L. González-Martín, E. García-Rey, N. Vilaboa, and L. Saldaña, "Incorporation of Mg particles into PDLLA regulates mesenchymal stem cell and macrophage responses," *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 104, no. 4, pp. 866–878, Apr. 2016.
- [101] M. C. Fernández-Calderón, S. C. Cifuentes, M. A. Pacha-Olivenza, A. M. Gallardo-Moreno, L. Saldaña, J. L. González-Carrasco, M. T. Blanco, N. Vilaboa, M. L. González-Martín, and C. Pérez-Giraldo, "Antibacterial effect of novel biodegradable and bioresorbable PLDA/Mg composites," *Biomed. Mater.*, vol. 12, no. 1, 2017.
- [102] J. Vlachopoulos and D. Strutt, "Polymer processing," *Mater. Sci. Technol.*, vol. 19, no. 9, 2003.
- [103] M. Lim, L. T. ; Auras, R; Rubino, "Processing technologies for poly(lactic acid)," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 33, no. 8, pp. 820–852, Aug. 2008.
- [104] M. Murariu and P. Dubois, "PLA composites: From production to properties," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 107, pp. 17–46, Dec. 2016.
- [105] A. S. Luyt and I. Kelnar, "Effect of halloysite nanotubes on the thermal degradation behaviour of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/poly(lactic acid) microfibrillar composites," *Polym. Test.*, vol. 60, pp. 166–172, Jul. 2017.



- [106] S. Ouchiar, G. Stoclet, C. Cabaret, E. Georges, A. Smith, C. Martias, A. Addad, V. Gloaguen, "Comparison of the influence of talc and kaolinite as inorganic fillers on morphology, structure and thermomechanical properties of polylactide based composites," *Appl. Clay Sci.*, vol. 116–117, pp. 231–240, Nov. 2015.
- [107] S. M. Ogbomo, K. Chapman, C. Webber, R. Bledsoe, and N. A. D'Souza, "Benefits of low kenaf loading in biobased composites of poly(L-lactide) and kenaf fiber," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 112, no. 3, pp. 1294–1301, May 2009.
- [108] M. Żenkiewicz, J. Richert, and A. Róžański, "Effect of blow moulding ratio on barrier properties of polylactide nanocomposite films," *Polym. Test.*, vol. 29, no. 2, pp. 251–257, Apr. 2010.
- [109] G. Faludi, G. Dora, K. Renner, J. Móczó, and B. Pukánszky, "Improving interfacial adhesion in pla/wood biocomposites," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 89, pp. 77–82, Dec. 2013.
- [110] G. Faludi, J. Hári, K. Renner, J. Móczó, and B. Pukánszky, "Fiber association and network formation in PLA/lignocellulosic fiber composites," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 77, pp. 67–73, Mar. 2013.
- [111] V. Taubner and R. Shishoo, "Influence of processing parameters on the degradation of poly(L-lactide) during extrusion," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 79, no. 12, pp. 2128–2135, 2001.
- [112] V. Jašo, G. Glenn, A. Klamczynski, and Z. S. Petrović, "Biodegradability study of polylactic acid/ thermoplastic polyurethane blends," *Polym. Test.*, vol. 47, pp. 1–3, Oct. 2015.
- [113] T. Serra, J. A. Planell, and M. Navarro, "High-resolution PLA-based composite scaffolds via 3-D printing technology," *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 3, pp. 5521–5530, Mar. 2013.
- [114] H. Xu, D. Han, J.-S. Dong, G.-X. Shen, G. Chai, Z.-Y. Yu, W.-J. Lang, and S.-T. Ai, "Rapid prototyped PGA/PLA scaffolds in the reconstruction of mandibular condyle bone defects," *Int. J. Med. Robot. Comput. Assist. Surg.*, vol. 6, no. 1, p. n/a-n/a, Mar. 2009.
- [115] F. S. Senatov, K. V. Niaza, M. Y. Zadorozhnyy, A. V. Maksimkin, S. D. Kaloshkin, and Y. Z. Estrin, "Mechanical properties and shape memory effect of 3D-printed PLA-based porous scaffolds," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 57, pp. 139–148, 2016.
- [116] J.-W. Rhim, S.-I. Hong, and C.-S. Ha, "Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 42, no. 2, pp. 612–617, Mar. 2009.
- [117] M. Gong, Q. Zhao, D. Dai, Y. Li, and T. Jiang, "Fabrication of polylactic acid/hydroxyapatite/graphene oxide composite and their thermal stability, hydrophobic and mechanical properties," *J. Asian Ceram. Soc.*, vol. 5, no. 2, pp. 160–168, Jun. 2017.
- [118] M. P. Arrieta, J. López, D. López, J. M. Kenny, and L. Peponi, "Effect of chitosan and catechin addition on the structural, thermal, mechanical and

- disintegration properties of plasticized electrospun PLA-PHB biocomposites,” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 132, pp. 145–156, 2016.
- [119] Q. Yuan, C. Qin, J. Wu, A. Xu, Z. Zhang, J. Liao, S. Lin, X. Ren, and P. Zhang, “Synthesis and characterization of Cerium-doped hydroxyapatite/polylactic acid composite coatings on metal substrates,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 182, pp. 365–371, Oct. 2016.
  - [120] C. Ye, G. Ma, W. Fu, and H. Wu, “Effect of fiber treatment on thermal properties and crystallization of sisal fiber reinforced polylactide composites,” *J. Reinf. Plast. Compos.*, vol. 34, no. 9, pp. 718–730, 2015.
  - [121] V. B. Damodaran, D. Bhatnagar, and N. S. Murthy, “Biomedical Polymers: Processing,” in *Biomedical Polymers: Synthesis and Processing*, Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 55–71.
  - [122] E. Narimissa, R. K. Gupta, N. Kao, H. J. Choi, and S. N. Bhattacharya, “The comparison between the effects of solvent casting and melt intercalation mixing processes on different characteristics of polylactide-nanographite platelets composites,” *Polym. Eng. Sci.*, vol. 55, no. 7, pp. 1560–1570, 2015.
  - [123] N. Jouault, D. Zhao, and S. K. Kumar, “Role of Casting Solvent on Nanoparticle Dispersion in Polymer Nanocomposites,” *Macromolecules*, vol. 47, no. 15, pp. 5246–5255, Aug. 2014.
  - [124] S. Cheng and G. S. Grest, “Dispersing Nanoparticles in a Polymer Film via Solvent Evaporation,” *ACS Macro Lett.*, vol. 5, no. 6, pp. 694–698, 2016.
  - [125] S. Kim, K. Hyun, B. Struth, K. H. Ahn, and C. Clasen, “Structural Development of Nanoparticle Dispersion during Drying in Polymer Nanocomposite Films,” *Macromolecules*, vol. 49, no. 23, pp. 9068–9079, Dec. 2016.
  - [126] J. Zhou, X. Man, Y. Jiang, and M. Doi, “Structure Formation in Soft-Matter Solutions Induced by Solvent Evaporation,” *Adv. Mater.*, vol. 29, no. 45, 2017.
  - [127] A. Kaushal, S. M. Olhero, P. Antunes, A. Ramalho, and J. M. F. Ferreira, “Structural, mechanical and dielectric properties of Ba<sub>0.6</sub>Sr<sub>0.4</sub>TiO<sub>3</sub>—The benefits of a colloidal processing approach,” *Mater. Res. Bull.*, vol. 50, no. Supplement C, pp. 329–336, 2014.
  - [128] M. Liu, K. Jia, and X. Liu, “Preparation of hybrid colloidal graphite-copper phthalocyanine and their utilization in polymer composites with enhanced thermal conductivity and mechanical properties,” *J. Polym. Res.*, vol. 21, no. 11, 2014.
  - [129] R. G. Neves, B. Ferrari, A. J. Sanchez-Herencia, and E. Gordo, “Colloidal approach for the design of Ti powders sinterable at low temperature,” *Mater. Lett.*, vol. 107, no. Supplement C, pp. 75–78, 2013.
  - [130] J. Cesarano and I. A. Aksay, “Processing of Highly Concentrated Aqueous  $\alpha$ -Alumina Suspensions Stabilized with Polyelectrolytes,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 71, no. 12, pp. 1062–1067, 1988.
  - [131] F. F. Lange, “Powder Processing Science and Technology for Increased

- Reliability,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 72, no. 1, pp. 3–15, 1989.
- [132] J. A. Lewis, “Colloidal Processing of Ceramics,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 83, no. 10, pp. 2341–2359, 2004.
- [133] Y.-K. Leong and B.-C. Ong, “Polyelectrolyte-mediated interparticle forces in aqueous suspensions: Molecular structure and surface forces relationship,” *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 101, pp. 44–55, 2015.
- [134] D. Myers, “Polymeric Surfactants and Surfactant–Polymer Interactions,” in *Surfactant Science and Technology*, Wiley-Blackwell, 2005, pp. 220–244.
- [135] I. Szilagyi, G. Trefalt, A. Tiraferri, P. Maroni, and M. Borkovec, “Polyelectrolyte adsorption, interparticle forces, and colloidal aggregation,” *Soft Matter*, vol. 10, no. 15, pp. 2479–2502, 2014.
- [136] D. Myers, *Surface Activity and Surfactant Structures*. Wiley-Blackwell, 2002.
- [137] T. F. Tadros, *Applied Surfactants: Principles and Applications*. Wiley, 2006.
- [138] S. W. Jiang, L. Yang, J. N. Pang, H. Lin, and Z. Q. Wang, “Electrodeposition of Ni-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> composite coatings with combined addition of SDS and HPB surfactants,” *Surf. Coatings Technol.*, vol. 286, pp. 197–205, 2016.
- [139] E. Y. Bryleva, N. A. Vodolazkaya, N. O. Mchedlov-Petrosyan, L. V Samokhina, N. A. Matveevskaya, and A. V Tolmachev, “Interfacial properties of cetyltrimethylammonium-coated SiO<sub>2</sub> nanoparticles in aqueous media as studied by using different indicator dyes,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 316, no. 2, pp. 712–722, 2007.
- [140] Y. Liu, M. Tourbin, S. Lachaize, and P. Guiraud, “Silica nanoparticles separation from water: Aggregation by cetyltrimethylammonium bromide (CTAB),” *Chemosphere*, vol. 92, no. 6, pp. 681–687, 2013.



## 2 Objetivos

El objetivo general de esta tesis doctoral es el procesado mediante técnicas coloidales de materiales PLA/Mg con cargas elevadas ( $> 10\%$  en masa) de micropartículas de Mg que no comprometan la estabilidad química del polímero o la biofuncionalidad del material compuesto. Este objetivo se puede desglosar en 4 objetivos parciales:

- I. Definir una ruta de procesado para materiales base PLA/Mg que permita incorporar un alto contenido en Mg dispersado en la matriz continua.** Para ello se diseñará un esquema de procesado que partirá de la mezcla de los componentes mediante la puesta en suspensión de las partículas de Mg en una disolución de PLA. Para mejorar la estabilidad coloidal y la estabilidad química del metal, así como para aumentar la dispersión del Mg en la mezcla final, se llevará a cabo la modificación superficial de las partículas mediante la adsorción de dos estabilizantes diferentes, un surfactante y un polielectrolito. El éxito de la modificación requiere realizar un estudio de la superficie de las partículas metálicas, así como determinar la mejora de la estabilidad química tras la adsorción de estos componentes. **Este objetivo se desarrollará en el capítulo 4.1 de la tesis doctoral.**
- II. Caracterizar físico-químicamente los materiales mediante la evaluación de la dispersión de las partículas de Mg, el anclaje del sistema partícula-estabilizante a la matriz de PLA, y su implicación en la estructura/microestructura del material.** Para ello, las suspensiones elaboradas se utilizarán como material de partida para obtener, mediante colada en cinta, materiales en forma de películas que no han estado sometidos a ningún proceso térmico. Esto permitirá evaluar los materiales compuestos sin ningún historial térmico que pueda desvirtuar sus características. **Este objetivo se abordará en el capítulo 4.2 de la tesis doctoral.**
- III. Obtener gránulos compuestos de PLA/Mg mediante el método desarrollado en los capítulos 4.1 y 4.2 como material de alimentación de procesos como la termopresión o la impresión 3D para obtener materiales masivos densos o porosos.** Para ello, en primer lugar se evaluarán las diferencias ocasionadas

durante la granulación del material, con respecto a los materiales obtenidos por colada en cinta, y se estudiará su comportamiento térmico para establecer una ventana de procesado. Por último, se evaluarán las modificaciones físico-químicas originadas por la obtención del material mediante un proceso térmico. **Este objetivo se desarrollará en el capítulo 4.3.**

- IV. Evaluar las mejoras que produce la adición de las partículas de Mg, su modificación superficial y el uso del método de procesado vía húmeda en términos de propiedades mecánicas y de degradación o comportamiento biológico *in vitro*.** Se abordarán las mejoras que se producen en las propiedades mecánicas, tanto a tracción, compresión, mecanodinámicas o por indentación, así como la degradación del polímero y la viabilidad celular. Este estudio se realizará a las cintas (tracción, mecanodinámicas, indentación, degradación, viabilidad) y a cilindros termoprensados (compresión, degradación). Las mejoras se relacionarán tanto con la composición de los compuestos y la modificación superficial mediante la adsorción del polielectrolito o el surfactante como con las mejoras introducidas por el método de mezclado. **Este objetivo se desarrollará en el capítulo 4.4.**

### 3 Procedimiento experimental y técnicas de caracterización

En este capítulo se detallan los materiales utilizados durante esta tesis doctoral así como el procesado y caracterización llevados a cabo.

#### 3.1 Modificación superficial de las partículas de Mg y preparación de las suspensiones PLA/Mg

##### 3.1.1 Materiales

Como material de partida se han utilizado polvos comerciales de Mg ( $Mg > 99.8\%$ ) obtenidos mediante atomización centrifuga de lingotes (Nitroparis, España) con forma esférica. El PLA es un PLDLA con un contenido en isómero D de un 4,25% (PLA 2003D) suministrado por Natureworks® (Estados Unidos). La polietilenimina (PEI) es un polielectrolito catiónico de cadena ramificada. El bromuro de hexadeciltrimetilamonio es un surfactante catiónico cuyo contraión es un ión bromuro, que cuenta con una cadena carbonada. Ambos reactivos tienen grado analítico y han sido suministrados por Sigma Aldrich (Estados Unidos).

Tabla 3.1. Resumen de los materiales poliméricos utilizados durante la tesis doctoral junto con sus fórmulas orgánicas y su peso molecular.

Material	Mw (g/mol)	Fórmula
PLA-Ácido poliláctico	182.000	
PEI-Polietilenimina	25.000	
CTAB- Bromuro de hexadeciltrimetilamonio	364	

##### 3.1.2 Tamaño de partícula

La determinación de la distribución de tamaño de partícula del Mg se llevó a cabo mediante análisis de la dispersión de luz láser con un equipo Malvern 2000 (Malvern Instrument Ltd, UK). Esta técnica se basa en la relación entre el tamaño de las partículas y el ángulo de difracción que produce un flujo de partículas al atravesar un haz láser. La

difracción del láser produce una serie de ondas que interactúan entre sí generando un patrón de luz-oscuridad. Debido al movimiento browniano de las partículas estos patrones sufren fluctuaciones que pueden relacionarse con el tamaño de las partículas a través de la ecuación de Stokes-Einstein (Ec. 3.1).

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D}$$

Ec. 3.1

donde  $d(H)$  es el radio hidrodinámico de las partículas,  $k$  la constante de Boltzman,  $T$  la temperatura en Kelvin,  $\eta$  la viscosidad del medio y  $D$  el coeficiente de difusión traslacional. Este equipo cuenta con un haz láser de He-Ne ( $\lambda = 632,8$  nm), detectores de ángulos de dispersión de  $0.01 - 15^\circ$ , y emplea la teoría de Fraunhofer, que constituye el modelo más simple para la determinación de partícula superior a  $1 \mu\text{m}$  sin considerar las propiedades ópticas de la muestra. Los polvos de estudio, previamente dispersados, se introducen en una unidad de dispersión en la que se encuentra un disolvente que actúa como medio para llevar las partículas hacia la unidad óptica de medida.

El resultado de esta medida es una distribución de tamaño de partículas que puede ser representada tanto en número de partículas ( $D_n$ ) como en volumen ( $D_v$ ). La distribución en número, como su nombre indica, determina el número de partículas que presenta cierto valor de tamaño, mientras que la distribución en volumen indica el volumen que ocupan las partículas de cierto tamaño. La distribución de tamaños en volumen suele describir de forma más eficiente las características del polvo, ya que la cuantificación de éste se realiza a través de su volumen.

### 3.1.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para la obtención de las imágenes de microscopía de barrido se utilizó un microscopio FEG Hitachi S4800 a 15kV mediante el modo de detección de electrones retrodispersados o de secundarios, en función de lo que se quería analizar en la muestra.

La preparación de muestras planas para microscopía consistió en la embutición en resina epoxi en frío, seguido del lijado con papeles abrasivos (320-1200) y pulido final con partículas de diamante de  $3-1 \mu\text{m}$  de diámetro. Para la observación en el microscopio electrónico de barrido, la superficie de las muestras se hizo eléctricamente



conductora mediante el recubrimiento con una capa delgada de grafito o aleación de oro y paladio.

### **3.1.4 Reactividad en agua del Mg**

Para establecer la reactividad en agua del Mg, se prepararon suspensiones de 2 g/L en agua destilada, utilizando HTMA (hidróxido de tetrametil amonio) y ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) para ajustar el pH. Se monitorizó el pH de esas suspensiones durante 360 h para analizar la progresión de la corrosión del Mg. Tras el estudio se analizó la composición de las aguas madres mediante Inducción de Plasma Acoplado (ICP) y Difracción de Rayos X.

#### **3.1.4.1 Inducción de plasma acoplado (ICP)**

La cantidad de  $\text{Mg}^{2+}$  en las suspensiones, producido por la corrosión de las partículas de Mg, fue determinada mediante espectrometría de plasma acoplado inductivamente (ICP), usando para ello un espectrómetro de ICP-MS Perkin Elmer modelo Elan-6000 (EEUU). Esta técnica se basa en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma. Los iones positivos generados en este proceso se separan en función de la relación masa/carga y finalmente son detectados y contados con un sistema multiplicador de iones.

Durante el proceso de desexcitación de los átomos neutros e iones se producen las emisiones de radiación electromagnética en la zona del ultravioleta visible. Estas radiaciones, características de cada elemento, se separan en función de su longitud de onda y por último se mide su intensidad. La resolución de este equipo es de ppm.

### **3.1.5 Difracción de Rayos X (DRX)**

Para evaluar la oxidación de los polvos tras su estudio de estabilidad en agua se registró su difractograma de rayos X (DRX) utilizando un difractómetro Bruker D8 Advance (Alemania) el cual incorpora un espejo Goebel y un detector PSD Vantec. Los difractogramas fueron llevados a cabo en un rango de  $5^\circ < 2\theta < 90^\circ$  a temperatura ambiente mediante radiación  $\text{CuK}\alpha$ .

La identificación y asignación de los picos se realizó empleando las fichas Joint Committee of Powder Diffraction Standards. El análisis cuantitativo de las fases

presentes en los materiales se llevó a cabo mediante el método Rietveld, diferenciando el contenido de Mg metálico del de hidróxido de magnesio (brucita).

### 3.1.6 Potencial zeta

Los potenciales superficiales de las partículas son difíciles de determinar experimentalmente de forma directa, por lo que habitualmente se mide el potencial zeta ( $\zeta$ ). El potencial zeta determina el valor del potencial entre la capa de Stern y la capa difusa (Figura 1.5), el cual es función de la carga superficial de la partícula. Experimentalmente este valor se obtiene mediante la determinación de la movilidad electroforética de las partículas, relacionada con el potencial zeta mediante la ecuación de Henry (Ec. 3.2):

$$\zeta = \frac{\eta \mu_e}{\epsilon \epsilon_0 \epsilon_s} f(k, a)$$

Ec. 3.2

donde  $\eta$  es la viscosidad del medio de dispersión,  $\mu_e$  la movilidad electroforética (velocidad de la partícula en el medio de dispersión),  $\epsilon$  es el campo eléctrico aplicado (condicionado por la conductividad de la muestra),  $\epsilon_0$  la permitividad en el vacío,  $\epsilon_s$  la permitividad en el medio de dispersión y  $f(k,a)$  es un algoritmo en función de la relación entre el espesor de la doble capa y el radio de la partícula. Existen dos aproximaciones para este algoritmo: la aproximación de Smoluchowski, que considera  $f(k,a)=1,5$ , y se emplea en el caso de partículas grandes con espesores de doble capa, y la aproximación de Hückel, que aproxima  $f(k,a)$  a 1 y se aplica para partículas pequeñas con grandes espesores de doble capa.

El estudio del potencial zeta se realizó utilizando un equipo de electroforesis Zeta Meter 3.0, de la casa Zeta-Meter (Estados Unidos) que consta de un microscopio óptico que permite observar las partículas coloidales que se encuentran dentro de una cámara o célula electroforética. Dos electrodos colocados en los extremos de la cámara son conectados a una fuente de potencia, creándose un campo responsable de la migración de las partículas por electroforesis.

El potencial zeta se utilizó para evaluar la carga superficial de las partículas de Mg desnudas, para evaluar la adsorción de aditivos en superficie mediante las curvas de saturación y para evaluar la variación superficial frente al pH del medio. Las suspensiones para realizar las medidas se prepararon con un contenido en sólidos de 0,1

g/L en KCl  $10^{-2}$  M. Los cambios de pH se realizaron empleando disoluciones  $10^{-1}$  M de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) y  $10^{-1}$  M de hidróxido de tetrametilamonio (HTMA).

### 3.1.7 Preparación de suspensiones de alto contenido en sólidos

Las suspensiones coloidales de alto contenido en sólidos fueron formuladas en agua desionizada utilizando HTMA (hidróxido de tetrametilamonio) para ajustar al pH óptimo. Para preservar la estabilidad química y coloidal de la suspensión de Mg se utilizaron dos agentes estabilizantes, la polietilenimina (PEI) y el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), ambos fueron añadidos a la suspensión en diferentes proporciones. Esta dilución se mantiene en agitación mecánica durante 5 minutos evitando en la medida de lo posible el espumado de la misma, y se va adicionando el polvo de Mg en pequeñas cantidades. Para dispersar los posibles aglomerados de la suspensión, y conseguir una mayor homogeneidad, esta fue sometida a un proceso de molienda de homogenización. Se empleó un molino de bolas de nylon donde la proporción bolas/suspensión/espacio libre fue un tercio en cada caso.

### 3.1.8 Reología

El estudio reológico de las suspensiones se llevó a cabo en un Reómetro Haake (Thermo Scientific, Alemania) modelo Mars II, el cual consta de un software específico para el diseño experimental Rheowin 4.0 Job manager y un sistema de aire a presión para controlar la presión ejercida por el reómetro. Este reómetro permite realizar medidas en modo de velocidad controlada (CR, controlled rate) y modo esfuerzo controlado (CS, controlled stress)

- Modo esfuerzo controlado (CS). Este tipo de medidas se llevaron a cabo aplicando un barrido de esfuerzos desde 0 Pa hasta 6 o 12 Pa, en función de la viscosidad de la muestra, en un tiempo de 180 s, seguido de otro barrido de esfuerzos hasta 0 Pa en el mismo tiempo. Este tipo de estudio permite caracterizar de forma detallada la zona de baja cizalla de la suspensión.
- Modo velocidad controlada (CR). Estas medidas se efectuaron mediante un ensayo en tres pasos. El primer paso es un incremento lineal de la velocidad de cizalla de 0 a  $1100 \text{ s}^{-1}$  en 120 s, seguido de un tiempo de permanencia a  $1100 \text{ s}^{-1}$  durante 60 s y un último paso de descenso de la velocidad de cizalla hasta  $0 \text{ s}^{-1}$

en 120 s. Este tipo de medida permite la caracterización completa de las curvas de flujo y, en caso de que aparezca, el ciclo tixotrópico.

La reología de suspensiones concentradas está fuertemente influenciada por la microestructura que adquieren las partículas al interaccionar en el seno de la suspensión. La interacción entre partículas depende de la historia de procesado y mezclado de la suspensión, por lo que para normalizar la medida de reología y poder comparar el comportamiento reológico de dos suspensiones en base a su formulación, es necesario precizallarlas [1]. Por ello, en esta tesis las curvas reológicas presentadas corresponden únicamente a la zona de disminución de velocidad de cizalla. Además, estas curvas están constituidas por la suma de los datos obtenidos de las medidas CS y CR. Las condiciones de medida fueron:

- Temperatura constante: 23 °C. El rotámetro consta de un ordenador conectado a un sistema de refrigeración para operar siempre a 23 °C.
- Sensor doble cono-placa. El sensor de medida empleado para este trabajo está formado por un cono doble de Ti, con una inclinación de 2° (Figura 3.1).

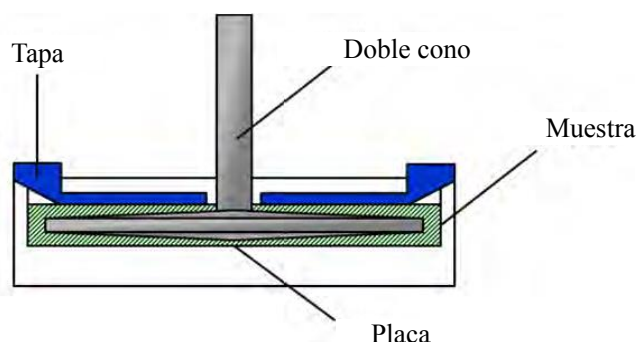


Figura 3.1. Esquema del sensor doble cono-placa empleado

- Ranura entre el doble cono y la placa: 0,087 m. Esta ranura se considera la posición de medida y se mantiene igual para todas las medidas.
- Volumen de muestra: 5,4 ml. El volumen de muestra es constante en todos los experimentos a fin de obtener medidas más reproducibles y permitir la comparación de resultados.

El tratamiento de datos y los diferentes ajustes se realizaron mediante el software Rheowin 4.0 Data manager (Thermo Scientific, Alemania).

### 3.2 Procesado de los materiales compuestos

La Tabla 3.2 recoge la nomenclatura de los materiales compuestos PLA/Mg conformados en esta memoria, atendiendo al método de conformado: cintas (C-), polvo (P-), cilindro por moldeo termoplástico (M-) o andamios por impresión 3D (A-), atendiendo a la cantidad de Mg en la composición: 5Mg, 10Mg, 30Mg o 50Mg, y atendiendo al estabilizante utilizado: PEI (P) o CTAB (C).

Tabla 3.2. Nomenclatura de los compuestos procesados en la tesis doctoral.

<b>PEI</b>	Polietilenimina
<b>CTAB</b>	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
<b>PLA</b>	Ácido poliláctico, PLA de partida
<b>P-PLA</b>	Polvo de PLA reprecipitado
<b>C-PLA</b>	Cinta de PLA
<b>M-PLA</b>	Cilindro de PLA
<b>P-10MgP</b>	Polvo de PLA con un 10%Mg y PEI como dispersante
<b>P-30MgP</b>	Polvo de PLA con un 30%Mg y PEI como dispersante
<b>C-5MgP</b>	Cinta de PLA con un 5%Mg y PEI como dispersante
<b>C-10MgP</b>	Cinta de PLA con un 10%Mg y PEI como dispersante
<b>C-30MgP</b>	Cinta de PLA con un 30%Mg y PEI como dispersante
<b>C-50MgP</b>	Cinta de PLA con un 50Mg y PEI como dispersante
<b>C-5MgC</b>	Cinta de PLA con un 5%Mg y CTAB como dispersante
<b>C-10MgC</b>	Cinta de PLA con un 10% Mg y CTAB como dispersante
<b>C-30MgC</b>	Cinta de PLA con un 30% Mg y CTAB como dispersante
<b>C-50MgC</b>	Cinta de PLA con un 50%Mg y CTAB como dispersante
<b>M-10MgP</b>	Cilindro de moldeo por compresión con un 10%Mg y PEI de dispersante
<b>M-30MgP</b>	Cilindro de moldeo por compresión con un 30%Mg y PEI de dispersante
<b>M-50MgP</b>	Cilindro de moldeo por compresión con un 50%Mg y PEI de dispersante
<b>M-10Mgext</b>	Cilindro de moldeo por compresión con un 10%Mg mezclado por extrusión

#### 3.2.1 Mezcla en vía húmeda

Para el procesado de todos los materiales estudiados en primer lugar se llevó a cabo una etapa común de mezclado en vía húmeda del PLA con las partículas de Mg. Esta etapa comienza con la preparación de la disolución de PLA en tetrahidrofurano (THF Panreac, Alemania) mediante agitación magnética y a una temperatura de 40 °C. La concentración adecuada para la posterior mezcla se determinó mediante un estudio reológico.

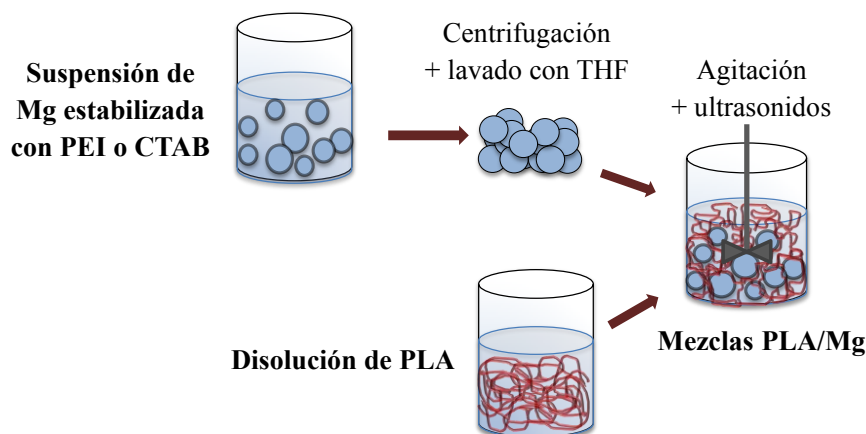


Figura 3.2. Esquema de mezclado PLA/Mg

Una vez se ha preparado la suspensión de Mg al 35% en volumen, siguiendo el procedimiento marcado anteriormente, se realizan varias centrifugaciones de la suspensión a 3000 rpm eliminando el sobrenadante acuoso. Una vez se ha eliminado el primer medio de suspensión, se añade THF y se lava por duplicado el Mg sedimentado y posteriormente se centrifuga de nuevo.

Las partículas sedimentadas se añaden a la disolución de PLA en agitación mecánica continua, en diferentes proporciones de PLA/Mg en peso: como 95/5, 90/10, 70/30 y 50/50. La agitación mecánica se realiza utilizando un agitador de palas y se mantiene hasta la completa homogenización de la mezcla a una velocidad que permita homogeneizarla sin llegar a crear burbujas o a aumentar la temperatura. Para evitar la aglomeración de partículas, y aumentar la estabilidad de las mismas en el nuevo medio de suspensión, se aplicó ultrasonidos con una sonda de ultrasonidos de alta potencia (400 W) durante 1 min. Si los materiales requieren de la adición de plastificante, el PEG 400 (Sigma Aldrich) se añadió posteriormente a la mezcla de PLA/Mg, en la proporción fijada, continuando con la agitación mecánica.

Una vez preparada la mezcla, esta se utilizó para el proceso de colada en cinta o Doctor Blade, obteniéndose materiales en forma de cinta (ver tabla 3.2); o se secó bajo atmósfera reducida, para obtener gránulos o polvos (ver tabla 3.2), utilizados como alimentación en el termoprensado o la impresión 3D. Para cualquier tipo de material procesado (cintas o polvo), si la mezcla no se utilizaba inmediatamente después de su preparación, se conservaba en rodillos corrotantes para no comprometer la estabilidad de las partículas.

### 3.2.2 Procesado de las cintas

Las cintas se procesaron mediante un equipo de colada en cinta, el cual cuenta con un carro móvil con una cuchilla que se desplaza sobre una superficie plana, en nuestro caso un vidrio, depositando una pequeña cantidad de la suspensión recogida en el depósito. La colada se realizó a una velocidad constante de 15 mm/s, ajustando la cuchilla a una altura de 100  $\mu\text{m}$ , para dar margen al paso las partículas de Mg (de diámetro  $<50 \mu\text{m}$ ).

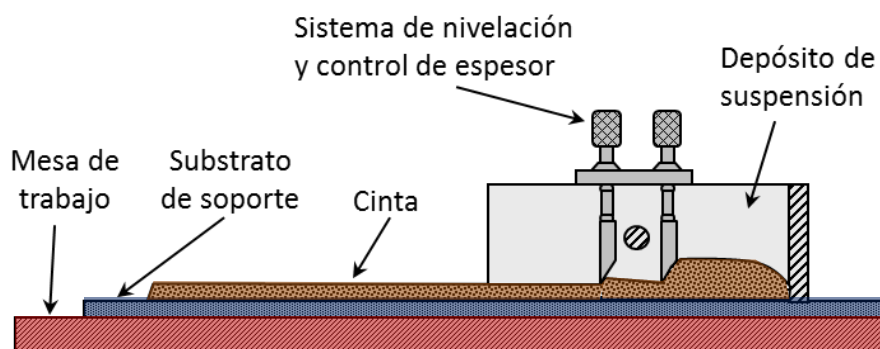


Figura 3.3. Esquema representativo del proceso de colada en cinta.

Una vez depositada, la cinta de PLA/Mg se deja secar durante 24 h a temperatura ambiente para facilitar su retirada. La cinta obtenida tiene dos superficies diferenciadas. La superficie en contacto con el sustrato/vidrio (cara lisa) y la superficie expuesta a la evaporación (cara rugosa). Para comprobar la completa eliminación del disolvente se realizó un análisis termogravimétrico (TGA) de la muestra C-10MgP después de 24 h a temperatura ambiente. El TGA se realizó a 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  en atmósfera de argón (40 ml / min) de 20  $^{\circ}\text{C}$  a 500  $^{\circ}\text{C}$ . En la Figura 3.4 se muestra el TGA de la muestra secada a temperatura ambiente, donde se distingue una pérdida del 3% en masa debida a la evaporación del disolvente orgánico o agua entre 55-95  $^{\circ}\text{C}$ . Por ello, se estableció un protocolo de secado de las cintas a 60  $^{\circ}\text{C}$ , la  $T_g$  del PLA. De esta manera aseguramos la eliminación del disolvente que pueda estar ocluido entre las cadenas sin comprometer la cristalinidad intrínseca del material. El secado a 60  $^{\circ}\text{C}$  se llevó a cabo en una estufa de ventilación forzada durante 24 h y 48 h.

Las muestras secadas a 60  $^{\circ}\text{C}$  a las 24 h o a las 48 h (Figura 3.4) no presentaron señal de pérdida de disolvente, por lo que se deduce que a las 24 h la cinta ya está seca y estable y no es necesario prolongar el secado. Por lo tanto, todas las cintas se sometieron a un tratamiento térmico a 60  $^{\circ}\text{C}$  durante 24 h y se almacenaron en desecador.

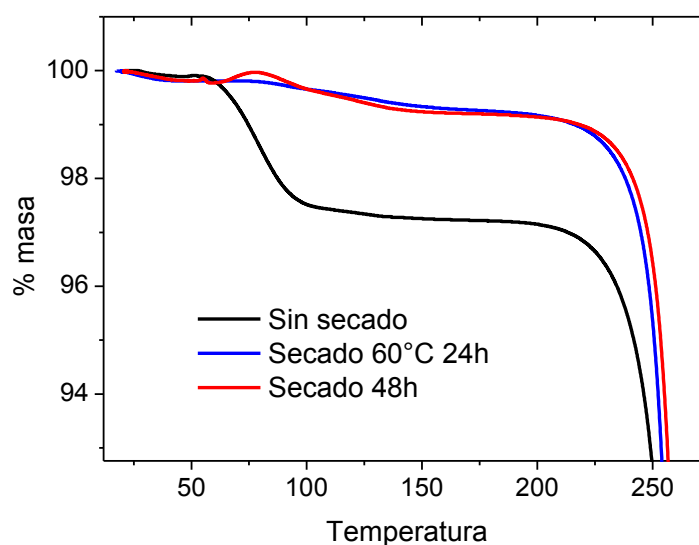


Figura 3.4. Análisis termogravimétrico de C-PLA secado 24 h a  $T_{amb}$ , C-PLA secado durante 24 h y C-PLA secado durante 48 h a 60 °C

### 3.2.3 Procesado del polvo y moldeo por compresión

Una vez preparada la mezcla PLA/Mg se granuló para obtener polvo mediante el secado de la disolución a temperatura ambiente. Este secado se llevó a cabo mediante el uso de un rotavapor Buchi R-210, con una Bomba V-700 (Suiza) acoplada y a una presión de 100 mmHg con agitación rotacional. Una vez obtenidos los gránulos, se trituraron hasta obtener un polvo homogéneo que se secó en estufa para eliminar las posibles trazas del disolvente orgánico.

El polvo así obtenido puede usarse como material para alimentar un equipo de moldeo por termo-compresión (OPAL 460 prensa hidráulica para embutición en caliente) para, utilizando diferentes moldes, obtener cilindros para analizar las propiedades mecánicas del material compuesto (6 mm de diametro y 9 mm de altura) o discos para ensayos biológicos (9,8 mm de diámetro y 2 mm de altura). En el proceso de termo-compresión, el compuesto se calienta a 160 °C, una temperatura superior a la de fusión determinada mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), y se mantiene durante 15 minutos para asegurar la homogeneización del fundido. La presión aplicada posteriormente es de 260 bar seguido de un enfriamiento rápido para obtener un material amorfo.





Figura 3.5. Opal 460 prensa hidráulica de embutición en caliente.

Para algunos estudios comparativos realizados en la tesis (Capítulo 4.3 y 4.4), se llevó a cabo un método alternativo de preparación de los compuestos PLA/Mg combinando extrusión y moldeo. El procesamiento de estos materiales lo describe Cifuentes *et al.* [2]: los materiales se mezclaron en una extrusora continua corrotante de doble husillo (Rondol, Francia) a una temperatura de 180 °C y velocidad de 40 rpm. El filamento obtenido se granceó para moldearlo a 190 °C durante 20 min con una presión de 130 bar.

### 3.2.4 Procesado del filamento y de las piezas porosas

La extrusión se llevó a cabo con un prototipo diseñado por el grupo de investigación, que es alimentado con los gránulos de PLA/Mg premezclados. La temperatura de extrusión y la velocidad dependen del material que se esté procesando, la longitud del extrusor es de 16 cm y la boquilla de salida tiene un diámetro de 2,85 mm.

El equipo de FDM fue una impresora de tipo prusa i3 modificada como se muestra en la Figura 3.6. El diámetro de alimentación es de 2,7 mm, mientras que el de salida es de 0,3 mm, el % de material se fija en un 30%. La velocidad de alimentación es de 35 mm/s y la relación alimentación/extrusión de 1,1. La temperatura de la placa colectora es de 145 °C aunque la de impresión depende del material. La distancia de la punta a la placa es de 0,2 mm.

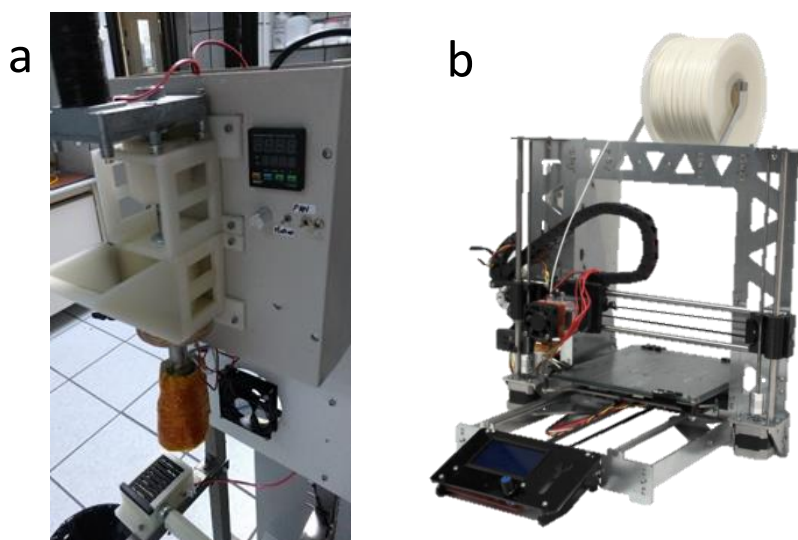


Figura 3.6. Prototipo de extrusora desarrollada en el grupo de investigación (a) e impresora tipo prusa i3 (b)

### 3.3 Caracterización físico-química

#### 3.3.1 Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier de los materiales compuestos

Los grupos funcionales de los compuestos PLA/Mg así como de todos los compuestos de partida (PLA, PEI, CTAB y THF) se analizaron mediante espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier ATR-FTIR. Se llevó a cabo el estudio de los cambios originados en la estructura del material compuesto por la modificación superficial de las partículas de Mg mediante la adsorción del polielectrolito o del surfactante, y por el procesamiento mediante colada o termo-compresión.

Se utilizó un espectrómetro FTIR de Perkin Elmer (ICTP) equipado con un dispositivo de reflectancia total atenuada (ATR) para obtener los espectros IR de las muestras que se escanean en la región de  $4000$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ . Los resultados se mostraron en transmitancia (%) y normalizados al pico de mayor intensidad para su correcta comparación.

#### 3.3.2 Calorimetría diferencial de barrido

En cuanto al estudio del comportamiento térmico de los polímeros y compuestos analizados se utilizó un TA Q100 DSC. Las calibraciones de temperatura y flujo de calor se realizaron con estándares de indio y zinc. La calorimetría diferencial de barrido (DSC) muestra el flujo de calor en función de la temperatura a una velocidad de

calentamiento dada y permite la observación de las diferentes transiciones térmicas del polímero. La Figura 3.7 muestra las típicas temperaturas de transición estudiadas: transición vítrea ( $T_g$ ), envejecimiento, cristalización en frío ( $T_{cc}$ ) y fusión ( $T_m$ ). Los experimentos se realizaron bajo atmósfera de nitrógeno con un peso de muestra de entre 1 y 8 mg depositada en cápsulas de aluminio. La temperatura de transición vítrea se determinó como el punto medio de la transformación ( $1/2 \Delta C_p$ ) sin tener en cuenta el pico de envejecimiento. La cristalización y las temperaturas de fusión se determinaron en el punto mínimo o máximo del pico de transición.

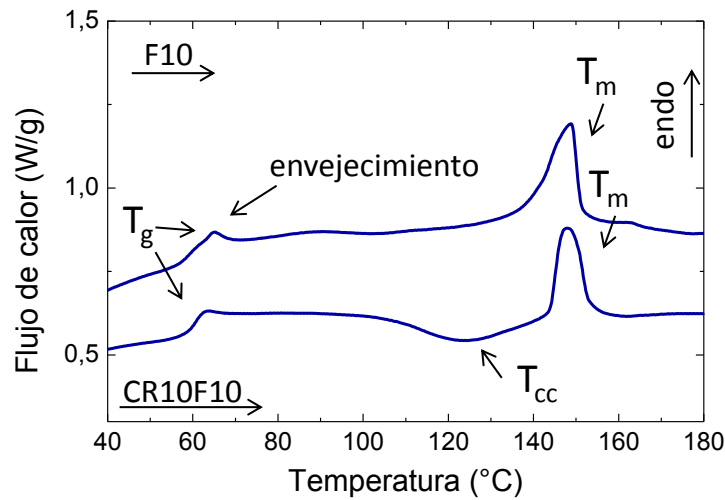


Figura 3.7. Esquema representativo de las temperaturas características de las transiciones del polímero ( $T_g$ ,  $T_{cc}$  y  $T_m$ ) así como el envejecimiento del primer calentamiento (F10) y del segundo (CR10F10)

Los experimentos se llevaron a cabo en condiciones dinámicas. En primer lugar se realizó un primer calentamiento (F10) de 0 °C a 180 °C, para eliminar el historial térmico de la muestra y estudiar su comportamiento y su cristalinidad después de ser procesada. En segundo lugar, un enfriamiento (CR10) a 0 °C seguido de un segundo calentamiento a 180 °C (CR10F10). Todos los pasos se llevaron a cabo a 10 °C / min. La fracción cristalina se calculó midiendo la entalpía de fusión,  $\Delta H_m$ , y la cristalización en frío,  $\Delta H_{cc}$ , a partir de las curvas de calentamiento usando la Ecuación 3.3, donde  $\Delta H_m^0$  es la entalpía del 100% de PLLA cristalino (93.1 J / g) [3].

$$f = \frac{(\Delta H_m - \Delta H_{cc})}{\Delta H_m^0}$$

Ec. 3.3

### 3.3.3 Análisis termogravimétrico de los materiales compuestos

Este estudio se hizo mediante un equipo termogravimétrico (TGA TAQ500, EEUU). Los análisis termogravimétricos monitorizan el cambio de masa de una muestra conforme aumentamos la temperatura. Con esta técnica se estudió la estabilidad térmica del material y se determinó la cantidad de residuo, es decir, el contenido de Mg en los compuestos.

Las mediciones para cada material se realizaron de 20 °C hasta 500 °C, alcanzando condiciones térmicas muy por encima del punto de fusión y de degradación del polímero. El experimento se llevó a cabo en condiciones dinámicas a 10 °C/min en atmósfera de argón (40 ml/min). Se determinaron: la temperatura de inicio de la degradación ( $T_0$ ), la temperatura de mayor pérdida de masa ( $T_p$ ), la temperatura de 50% de pérdida de masa ( $T_{50}$ ), la temperatura final de la degradación ( $T_e$ ) y la pérdida de masa en el principal pico de degradación ( $\Delta w_1$ ). Por último, también se recogen los porcentajes de residuo (%<sub>R</sub>) de los materiales de partida (PLA, C-PLA, PEI y CTAB) y los contenidos en Mg (%<sub>Mg</sub>) para los compuestos, considerando la cantidad de masa residual a 500 °C y restando el residuo presente de los precursores. El cálculo de la  $T_0$  se fijó en una pérdida de masa de un 0,2% y la  $T_e$  se calculó mediante la extrapolación de la tangente de la curva de pérdida de masa en la intersección de la línea de final ( $T_e$ ) (Figura 3.8a). La  $T_p$ , también conocida como el punto de inflexión, se calculó a partir de la primera derivada de la curva de pérdida de masa (Figura 3.8b).

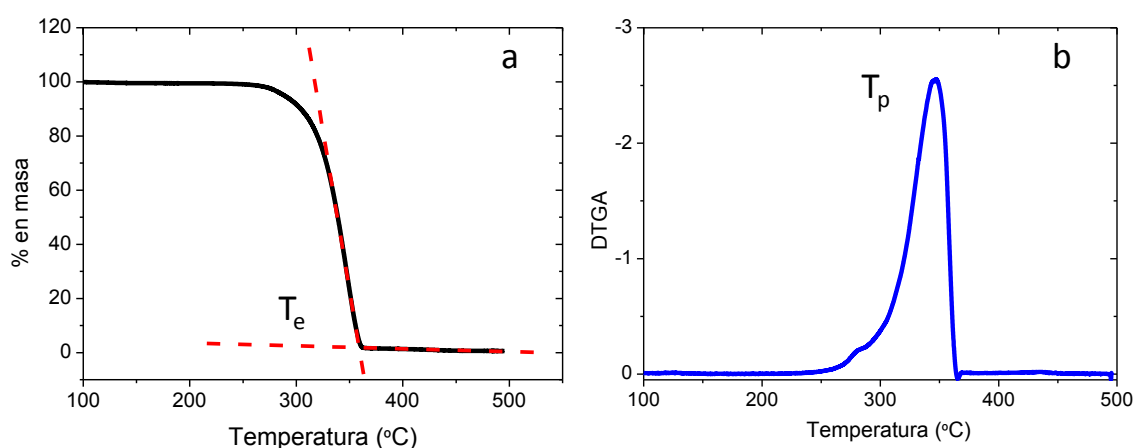


Figura 3.8. Representación del cálculo de  $T_0$  mediante la intersección entre la tangente a la curva de degradación y la recta de final de degradación (a) y de  $T_p$ , el pico máximo de la derivada del TGA.

### 3.3.4 Permeabilidad de las cintas

Las propiedades de transporte de las cintas de PLA se determinaron mediante el estudio de la permeabilidad para los gases CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. El método utilizado ha sido el de tiempo de retardo o *lag time* para calcular los parámetros de permeación: el coeficiente de permeabilidad (P), la difusión (D) y la solubilidad aparente (S) que se relacionan por la ecuación:

$$P = D \cdot S \quad \text{Ec. 3.4}$$

La P es una variable expresada en barrers (1 barrer = 10<sup>-10</sup> cm<sup>3</sup>(STP)·cm/cm<sup>2</sup>·s·cm Hg) y se calcula de la pendiente de las gráficas presión frente a tiempo en la parte lineal (Figura 3.9), según la ecuación:

$$P = \frac{273}{76} \left( \frac{Vl}{ATp_a} \right) \frac{dp_b}{dt} \quad \text{Ec. 3.5}$$

Por tanto, P depende del volumen de la cámara de baja presión (V), el espesor de la membrana (l), el área efectiva de la membrana (A), la presión del gas que se introduce a la cámara de alta presión (p<sub>a</sub>) y la temperatura del experimento (T). Por su parte D, el coeficiente de difusión, está directamente relacionado con el espesor de la membrana (l) y el tiempo de retardo (θ). El tiempo de retardo se calcula mediante la extrapolación del ajuste de las rectas presión-tiempo hasta el eje de abscisas, según la ecuación:

$$\theta = \frac{l^2}{6D} \quad \text{Ec. 3.6}$$

La solubilidad aparente se determina mediante la Ec. 3.4.

La configuración experimental se compone de dos tanques, cámara de alta presión y de baja presión (31 cm<sup>3</sup>), conectado a una celda de permeación cuya área efectiva es de 1385 mm<sup>2</sup>. Todos los experimentos se realizaron a 30°C, con una presión de alimentación de 1 bar.

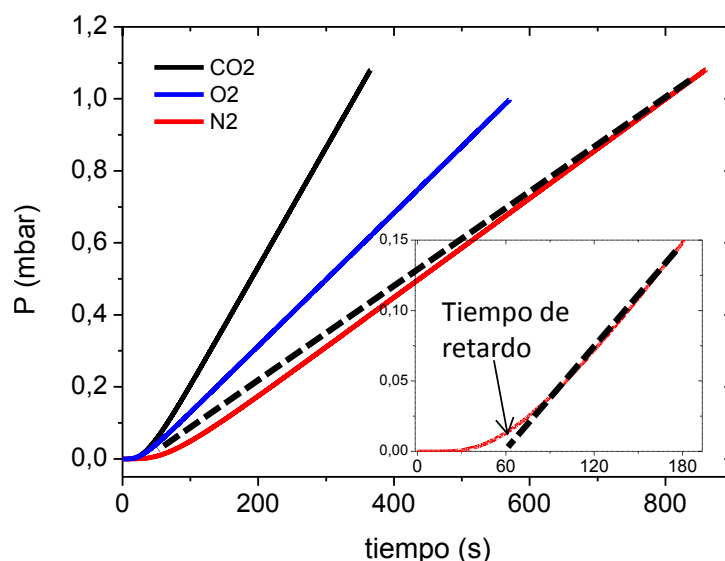


Figura 3.9. Permeación de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> a 30 °C y 1 bar a través de la muestra C-PLA

### 3.3.5 Estudio de la morfología superficial de las cintas

Para estudiar macroscópicamente la morfología de las muestras se utilizó un microscopio óptico Nikon.

La microscopía electrónica de barrido se llevó a cabo en un FEG Hitachi S4800 a 15kV equipado con un espectrómetro de energía dispersiva de rayos X (EDS).

Los espesores de las cintas se calcularon únicamente en la zona polimérica, mediante análisis de imagen, como la media aritmética de 10 medidas de espesores escogidos aleatoriamente en las micrografías.

La rugosidad de las cintas se midió con un perfilómetro óptico Zeta (Zeta Systems, Alemania). Las muestras se recubrieron con una aleación de oro y paladio, se tomaron 7 imágenes en 3D a 50 aumentos mediante un microscopio óptico (Figura 3.10) mediante el programa Zeta (KLA-Tenco). Se midieron (i) la rugosidad media superficial,  $S_a$ , determinada por el programa, (ii) la altura media de los picos,  $R_h$ , determinada a partir de la media de las alturas de todos los picos sobre la superficie de las cintas de las imágenes analizadas, y (iii) el parámetro de kurtois,  $R_{ku}$ , que evalúa la aleatoriedad de las alturas y que se determinó mediante el programa [4].

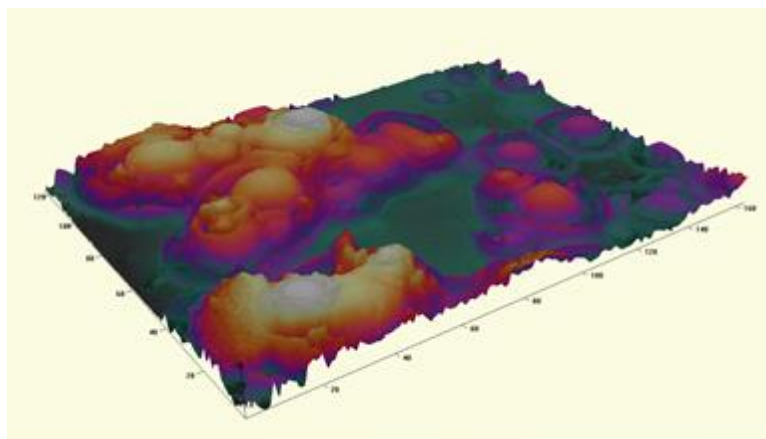


Figura 3.10. Imagen en 3D de la superficie de la muestra C-50MgP.

Con el equipo EasyDrop standard de KRÜSS se realizaron tres medidas del ángulo de contacto de agua sobre la superficie rugosa de las cintas, evaluando la gota inmediatamente después de su deposición (esperando 10 s) sobre la cinta a temperatura ambiente. Mediante el *software* del equipo se ajustaron los diferentes resultados al modelo de Young-Laplace definido por la ecuación:

$$\Delta P = \sigma \left( \frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right)$$

Ec. 3.7

Este método se considera el más exacto de los métodos de medida, donde el ángulo es función de la pendiente de la tangente del contorno de la gota entre el punto de contacto entre las tres fases (líquido, aire, superficie).

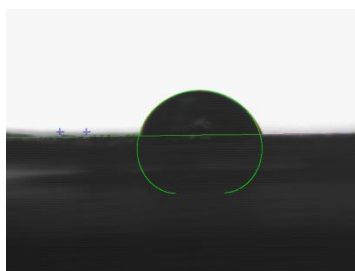


Figura 3.11. Ajuste de Laplace de una gota sobre una cinta de PLA/Mg

### 3.4 Caracterización mecánica

#### 3.4.1 Nanoindentación

Las medidas de nanoindentación se realizaron en la sección transversal de las cintas compuestas. Las cintas se embutieron en resina epoxi y se pulieron como se detalla en la sección 3.1.3. Se muestra un ejemplo en la Figura 3.12.



Figura 3.12. Cuatro cintas de PLA/Mg embutidas perpendicularmente en resina epoxi para estudiar su corte transversal.

Se utilizó en un nanoindentador instrumentado (Zwick/Roell, Zhu 2.5, Alemania), con una punta de diamante tipo Berkovich, calibrado con sílice fundida con una carga constante de 1 mN. Esta técnica se lleva a cabo con la puesta en contacto del indentador con la superficie, mediante indentaciones producidas bajo cierta carga o profundidad. La carga se representa en función de la profundidad de la penetración, como se muestra en la típica curva de carga y descarga (Figura 3.13), de la cual se pueden obtener los parámetros de desplazamiento máximo ( $h_{\max}$ ), carga máxima ( $P_{\max}$ ) o rigidez de contacto ( $S$ ), que es la pendiente de la tangente de la descarga en el punto máximo.

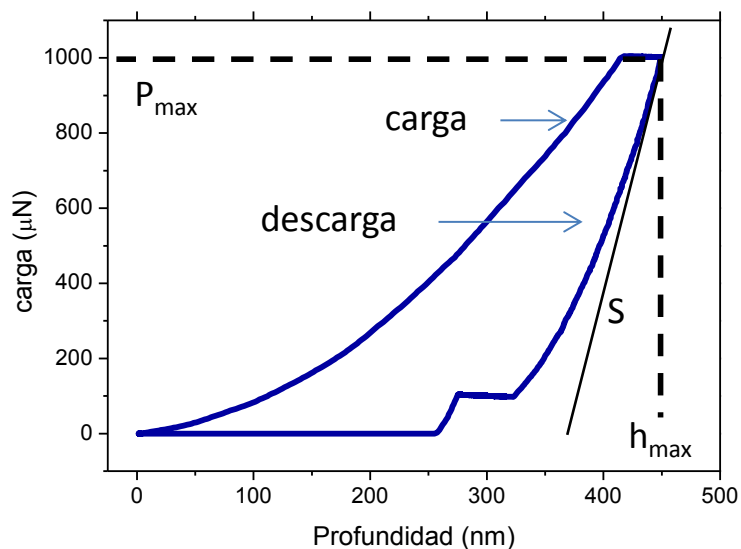


Figura 3.13. Curva típica de carga-descarga de medidas de indentación

Para la determinación de la dureza ( $H$ ) se utiliza el método definido por Oliver y Pharr.



La dureza se define como:

$$H = \frac{P_{max}}{A}$$

Ec. 3.8

donde A es el área de contacto proyectada de la huella que, para el caso de un indentador Berkovitch, se puede calcular de la siguiente manera:

$$A = 24,5h_c^2$$

Ec. 3.9

Siendo  $h_c$  la profundidad de contacto y donde  $\epsilon$  depende de la geometría del indentador (0,72 para Berkovitch):

$$h_c = h_{max} - \epsilon \frac{P_{max}}{S}$$

Ec. 3.10

Por otro lado, para determinar el módulo de las muestras en primer lugar se debe determinar el módulo reducido ( $E_r$ ) mediante la siguiente ecuación, donde  $\beta$  es un coeficiente dependiente del indentador (1,034):

$$S = \frac{2\beta}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A}$$

Ec. 3.11

El módulo (E) se relaciona con  $E_r$  mediante la siguiente ecuación, donde  $E_i$  y  $v_i$  son el módulo y el coeficiente de Poisson, respectivamente, del indentador utilizado.

$$\frac{1}{E_r} = \frac{(1 - v^2)}{E} + \frac{(1 - v_i^2)}{E_i}$$

Ec. 3.12

Se evaluó el material compuesto realizando varias indentaciones a una distancia a la superficie de las partículas desde 2 hasta 30  $\mu\text{m}$ , a temperatura ambiente. Se midió la distancia de la huella a la partícula mediante varios barridos realizados con un AFM acoplado. Debido a la conformación del compuesto, existe la posibilidad de que ciertas huellas estén cercanas a ciertas partículas no visibles en el corte transversal realizado, por ello se seleccionaron los resultados de manera que existiera cierta homogeneidad en las medidas.

### 3.4.2 Propiedades mecanodinámicas (DMTA)

El análisis mecanodinámico estudia el comportamiento viscoelástico de los materiales en función de la temperatura. Estas medidas se basan en el desfase entre la aplicación de un esfuerzo sinusoidal al que se somete el material y su respuesta. Este desfase ocurre debido al tiempo que requieren las cadenas poliméricas para volver a su estado original, y da cierta información sobre las diferentes relajaciones que presenta el polímero o la matriz polimérica estudiada.

A partir del desfase entre el esfuerzo y la deformación se obtiene una serie de expresiones matemáticas hasta llegar al denominado módulo complejo ( $E^*$ ) que a su vez se divide en  $E'$ , su componente real, y  $E''$ , su componente imaginaria, según:

$$E^* = E' \cos \delta + i \cdot E' \sin \delta = E' + i \cdot E'' \quad \text{Ec. 3.13}$$

Donde  $E'$  es el módulo de almacenamiento más conocido como módulo elástico,  $E''$  el módulo de pérdidas o módulo viscoso y el cociente entre ambos ( $E''/E'$ ) se denomina factor de pérdidas (o  $\tan \delta$ ).  $E'$  indica la capacidad del material para restablecer la energía suministrada mecánicamente al sistema, es una medida directa de la rigidez del material,  $E''$  indica la capacidad del material para disipar la energía suministrada mecánicamente al sistema, y por último  $\tan \delta$  es la relación que existe entre estos dos parámetros e indica la capacidad de amortiguación del material. Los polímeros presentan ciertas relajaciones características, aunque en el caso de los polímeros amorfos o semicristalinos, la transición más importante es la  $\alpha$ , asociada a la transición vítrea del sistema.

Las medidas se llevaron a cabo mediante un Analizador Mecánico Diferencial (DMA) del tipo METTLER DMA 861e, a frecuencia constante de 1, 3, 10 y 30 Hz, rango de temperatura de -20 °C a 120 °C, velocidad de calentamiento de 1,5 °C/min. Las muestras se prepararon cortando tiras de las cintas con un ancho de 2,2 mm.

### 3.4.3 Ensayos de tracción y compresión

Las curvas de tensión deformación ( $\sigma$  vs  $\epsilon$ ) se obtienen a partir de ensayos de tracción o compresión donde una muestra se deforma a una velocidad de deformación constante, y se registra el esfuerzo necesario para deformar el material.

Para el estudio mecánico de las cintas de PLA/Mg se recurrió a ensayos de tracción en un equipo universal Instron 2204 (ICTP). Las probetas fueron ensayadas en forma de halterio con un ancho de 2,2 mm y largo de 15 mm. Los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente (25 °C) con una célula de carga de 50 N y a una velocidad de deformación de 10 mm/s. Para cada contenido de Mg, se repitieron los ensayos más de 5 veces para poder estudiar la dispersión de los resultados, además se eliminaron los resultados provenientes de probetas que una vez ensayadas se observó algún defecto que pudiera ser responsable de su ruptura.

En el caso de las probetas cilíndricas el ensayo que se realizó fue a compresión en un equipo universal EM2/100/FR-10kN Micro Tests. Los ensayos se hicieron a temperatura ambiente (25 °C) con probetas con forma cilíndrica de 6 mm de ancho por 9 mm de alto. Para este tipo de ensayos se requiere que las dos caras de la probeta sean plano paralelas, por lo que tuvieron que ser lijadas antes de ser ensayadas. Los experimentos se realizaron por triplicado utilizando una velocidad de deformación de  $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  (velocidad de cruceta  $2,6 \pm 0,07 \text{ mm/min}$ ).

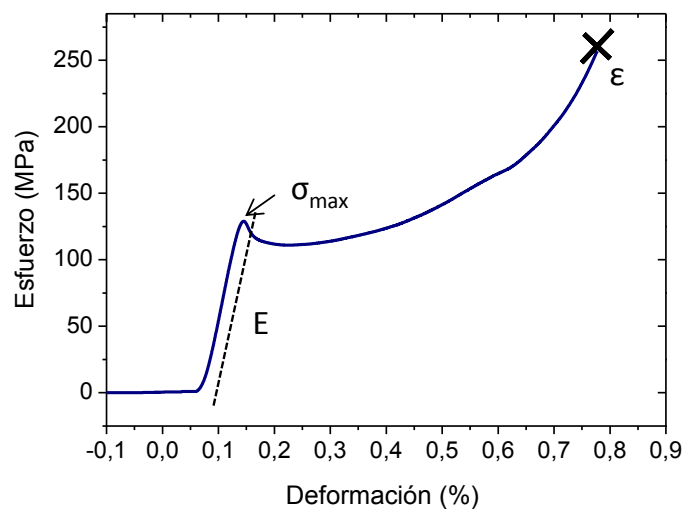


Figura 3.14. Curva típica de esfuerzo-deformación donde se muestran representados el módulo elástico (E), el esfuerzo máximo ( $\sigma_{\max}$ ) y la deformación máxima ( $\epsilon$ ).

El módulo de Young se midió mediante el uso de un extensómetro y tanto este resultado como los demás datos obtenidos se presentan como un valor promedio con una desviación estándar.

### 3.5 Degradación *in vitro*

#### 3.5.1 Liberación de hidrógeno

Una manera de medir la degradación del Mg en la matriz polimérica de forma indirecta es mediante ensayos de liberación de hidrógeno (Figura 3.15a). El sistema consiste en un embudo invertido ensamblado a una bureta graduada colocada encima de la muestra (Figura 3.15b y c). El medio de degradación es una solución salina tamponada (PBS: NaCl 0.138 M; KCl 0.0027 M) que se vierte en un vaso de precipitados donde se sumerge la muestra. Los ensayos se realizan a una temperatura constante de  $37 \pm 1$  °C controlado por un baño termostático. La bureta (10 ml) se llenó con PBS y se midió la liberación de hidrógeno mediante el desplazamiento del nivel de PBS en la bureta a medida que el gas  $H_2$  evolucionaba.

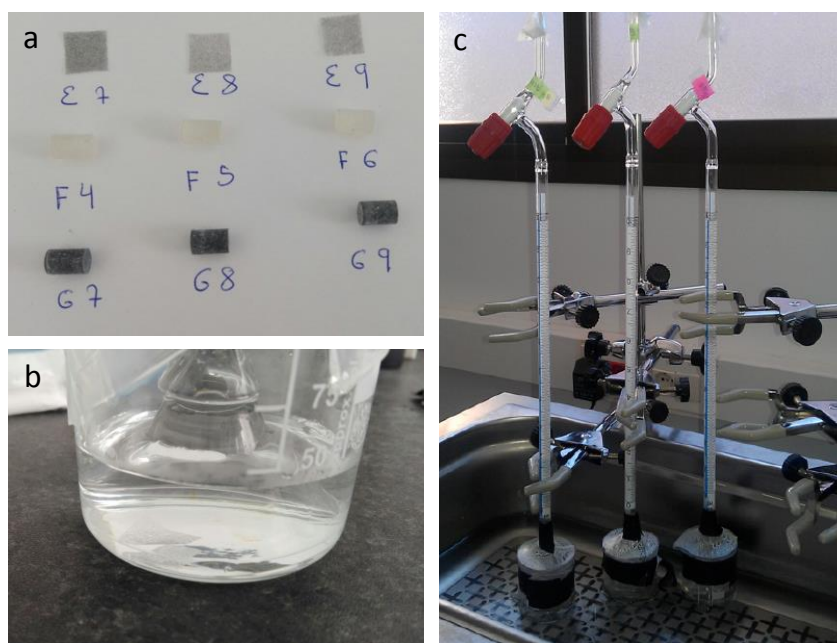


Figura 3.15. Fotografía de las diferentes muestras ensayadas (a), conformación del embudo para realizar las medidas de liberación con la sección de una cinta (b) y fotografía de la experimental del ensayo de liberación de hidrógeno.

La relación entre el volumen del medio (ml) y el área superficial de la muestra ( $cm^2$ ) fue de 20:1. Los ensayos se hicieron por triplicado, renovando el medio cada 7 días para obtener resultados más representativos. En el caso de los materiales termoprensados se utilizaron probetas de forma cilíndrica (altura: 9 mm, diámetro: 6 mm) y en el caso de las cintas, secciones de  $1\ cm^2$ .

### 3.5.2 Microscopía electrónica y EDS

Para evaluar el grado de degradación que poseen las probetas inmersas a diferentes tiempos se realizó el estudio de microscopía electrónica del corte transversal de las mismas. La composición de estas cintas después del tiempo de inmersión evaluado se determinó mediante Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS) acoplada al SEM y se evaluó mediante el programa INCA energy (Oxford Instrument).

### 3.5.3 Ensayos de absorción de agua y pérdida de masa

Asociado a la liberación de hidrógeno de las probetas, se estudió tanto la variación de masa como la absorción de agua de las probetas cilíndricas, para obtener mayor información sobre la degradación del material durante la inmersión. El peso de las muestras se midió antes de comenzar los experimentos y después de 7 y 28 días de inmersión en PBS. Para evaluar la absorción de agua se utilizaron las muestras húmedas, que se pesaron inmediatamente después de retirarlas de la disolución únicamente secándolas superficialmente. La pérdida de masa se evaluó con las muestras secas, que se pesaron después de mantenerlas en desecador durante un mes. Debido a que la balanza empleada tenía un error de 0,00005 g (0,05 mg), únicamente se pudieron realizar estos ensayos para los cilindros compuestos y no para las cintas ya que el error en la medida superaba el tanto por ciento de cambio en la masa, tanto para la absorción de agua como para la variación de masa.

La absorción de agua se midió utilizando la ecuación:

$$\text{absorción de agua (\%)} = \frac{m_h - m_f}{m_f}$$

Ec. 3.14

donde  $m_f$  es la masa final de la probeta y  $m_h$  la masa de la probeta húmeda.

La variación de masa se calculó a partir de la muestra seca, en comparación con su masa inicial, según:

$$\text{pérdida de masa (\%)} = \frac{m_0 - m_f}{m_0}$$

Ec. 3.15

donde  $m_0$  es la masa inicial de la probeta y  $m_f$  la masa final de la probeta.

## 3.6 Ensayos biológicos

### 3.6.1 Esterilización

Para los ensayos de viabilidad celular se requiere esterilizar las muestras, lo cual se llevó a cabo mediante el uso de luz ultravioleta (UV). Se expusieron las muestras durante 30 min por ambas caras de manera que se asegure que no se produce ningún cambio en la estructura del compuesto. Las muestras evaluadas fueron las cintas cortadas de forma circular con 1 cm de diámetro y los termoprensados con forma cilíndrica de diámetro 1 cm y altura 3 mm.

### 3.6.2 Cultivo de fibroblastos y células estromales

Los ensayos *in vitro* se hicieron tanto con fibroblastos embrionarios de ratón (MEF), para el caso de las cintas compuestas, como con células estromales (ST-2). Ambas células fueron cultivadas de manera similar, únicamente varía el medio simulado; las células MEF se cultivaron en medio DMEM (Gibco) y las células ST-2 en medio RPMI (Gibco). A ambos se les añadió un 10% en volumen de suero fetal bovino (FBS, Sigma Aldrich) y un 1% en volumen de penicilina/estreptomicina (Pen Strep, sigma Aldrich). El cultivo celular se llevó a cabo a 37 °C con una atmósfera humidificada con un 5% de CO<sub>2</sub> en una incubadora, donde se realizó el cambio de medio cada 2 o 3 días para evitar la excesiva proliferación, y por consiguiente la muerte celular. El cambio de medio se hizo una vez proliferada la cantidad requerida de células en los frascos de cultivo (10 ml), entonces se elimina el medio y las células se lavan con PBS (Gibco). Seguidamente se añaden 3 ml de tripsina que produce el despegado de las células al frasco de cultivo. De esos 3 ml, uno se añade a un nuevo frasco, se le añaden 9 ml de medio DMEM/FBS/antibiótico y se conserva en la incubadora.

Si se van a realizar ensayos *in vitro*, una vez se ha añadido la tripsina y los 9 ml de medio se cuenta el número de células mediante un hemocitómetro tomando 100 µL de Trypan blue (Sigma Aldrich) y 100 µL de células. La concentración celular requerida para los ensayos de viabilidad es de 100.000 células/ml.

### 3.6.3 Ensayo indirecto

Tanto para los ensayos indirectos como para los de degradación de los materiales evaluados, el procedimiento seguido fue el que se detalla a continuación.

Las muestras, una vez se han esterilizado, se mantienen inmersas en 1 ml de DMEM a diferentes tiempos (24 h, 48 h, 1, 2, 3 y 4 semanas). Por otro lado, las células se incuban durante 24 h en pocillos a las condiciones indicadas anteriormente permitiendo la correcta adhesión. Después de 24 h, se elimina el medio de las células, se añaden 0,5 ml del medio donde se han degradado las probetas y se incuban durante otras 24 h.

La viabilidad celular se calculó mediante el ensayo WST-8 que evalúa la actividad mitocondrial de las células. Se elimina el anterior medio de los pocillos y se lavan las células con PBS, este se sustituye con nuevo medio que contiene un 1% en volumen de WST-8. Después de 2 a 4 h de incubación a 37 °C, cuando se observa un cambio de color significativo del medio, se mide la absorbancia (abs) a 450 nm en un lector de microplacas (PHOmO, autobio labtec instrument co. Ltd, china). Además de los compuestos, se midieron un control positivo donde las células se incuban en medio DMEM o RPMI/FBS/antibiótico puro, y un blanco de únicamente el medio. La viabilidad se define como:

$$viabilidad\ celular\ (\%) = \frac{abs(muestra) - abs(blanco)}{abs(+control) - abs(blanco)} \quad Ec. 3.16$$

En el caso de los fibroblastos MEF, para estudiar la morfología de las células y su viabilidad, estas se tiñeron con dos marcadores, Vybrant y DAPI. El Vybrant colorea las células vivas y el DAPI (4',6-diamino-2-fenilindol) es un marcador de ADN que se utiliza, a diferencia del Vybrant, con células fijadas y permite estudiar la integridad de los núcleos celulares. Para ello se elimina el medio del ensayo WST y se añade nuevo medio con un contenido de 4 µL de Vybrant por cada ml de DMEM en cada pocillo dejando las células incubar 45 min. Una vez se han teñido, se elimina el medio y se le añade un fijador (disolución de paraformaldehído) para congelar las células, para posteriormente añadir PBS con 1 µL de DAPI por cada ml de solución, se deja actuar 5 min, se elimina y se conservan las muestras con PBS.

En el caso de las células estromales ST-2, se utilizó un sistema Rodamina/DAPI que actúa de la misma manera que el explicado anteriormente. En este caso, una vez se ha

eliminado el medio del ensayo WST-8 y lavado con PBS, se añade el fijador de paraformaldehído y se deja actuar durante 15 min. Después de esto se utiliza otra disolución permeabilizante (Triton-X) y se conserva durante 5 min para posteriormente eliminarse y añadir a las células el medio RPMI con 8  $\mu$ L de rodamina por ml de PBS. Después de una hora de cultivo se elimina, se lava y se añade la disolución de DAPI que se deja actuar durante 5 min para posteriormente eliminar el tinte y dejar las muestras en PBS.

Las imágenes de las células se tomaron utilizando un microscopio de fluorescencia a diferentes aumentos (Axio Scope A.1, Carl Zeiss Microimaging GmbH, Alemania).

#### **3.6.4 Ensayos directos**

Los ensayos directos únicamente se llevaron a cabo sobre las muestras en forma de cinta, por lo que solo se utilizaron fibroblastos. Después de contar el número de células se añade 1 ml de su disolución sobre las muestras ya esterilizadas y se incuban durante 24 h. Una vez las células se han cultivado sobre los materiales se lleva a cabo el mismo procesamiento descrito en el apartado anterior, se evalúa la viabilidad celular mediante WST-8 y se tiñen las células con el sistema Vybrant/DAPI.

Por último, se evalúa la morfología y la distribución celular sobre la superficie mediante imágenes con un microscopio de fluorescencia.



## Bibliografía

- [1] L. J. Gauckler, T. Graule, and F. Baader, "Ceramic forming using enzyme catalyzed reactions," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 61, no. 1, pp. 78–102, 1999.
- [2] S. C. Cifuentes, R. Gavilán, M. Lieblich, R. Benavente, and J. L. González-Carrasco, "In vitro degradation of biodegradable polylactic acid/magnesium composites: Relevance of Mg particle shape," *Acta Biomater.*, vol. 32, pp. 348–357, 2016.
- [3] L. T. Lim, R. Auras, and M. Rubino, "Processing technologies for poly(lactic acid)," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 33, no. 8, pp. 820–852, 2008.
- [4] "keyence." [Online]. Available: <https://www.keyence.com/ss/products/microscope/roughness/line/kurtosis.jsp>.



## 4 Resultados y discusión

### 4.1 Modificación superficial de las partículas de Mg para la formulación y granulación de suspensiones PLA/Mg

Entre los metales biocompatibles (Ti, Fe, etc.) el Mg ha suscitado un elevado interés en el ámbito de los biomateriales, no solo debido a su carácter biodegradable, sino también a la biocompatibilidad de sus productos de degradación, sus propiedades mecánicas similares al hueso cortical y su carácter osteoconductor.

Como se indicó en la introducción, la incorporación de Mg en implantes temporales de base polimérica, para perfilar propiedades tan relevantes como la degradación y la bioactividad, presenta algunas limitaciones de fabricación. El proceso de mezclado por termofusión es el más utilizado en la preparación de la materia prima (*feedstock*) para fabricar este tipo de materiales compuestos. Sin embargo, la mezcla de partículas inorgánicas, como el Mg, en un polímero termoplástico, como el PLA, mediante termofusión plantea dos problemas principales. En primer lugar, el mezclado en una extrusora de doble huso, a temperaturas superiores a 180 °C, con ciclos sucesivos de molturación y mezcla, puede provocar la degradación térmica del polímero (matriz) y fragilizar el material compuesto [1]. En segundo lugar, la homogeneidad del mezclado orgánico/inorgánico se puede ver comprometida por la elevada viscosidad del polímero fundido, que en muchas ocasiones alcanza los 1000 Pa·s. Estas dos particularidades del proceso de mezclado por termofusión limitan la cantidad y forma en que la fase inorgánica puede ser incorporada a la matriz polimérica.

En esta sección de resultados se presenta el desarrollo de una vía alternativa de mezclado en húmedo de las partículas de Mg y PLA, basada en el estudio y optimización de la estabilidad coloidal de micro-partículas de Mg. El proceso de mezclado coloidal tiene como prioridad dispersar y estabilizar las partículas de Mg en una disolución de PLA. Este tipo de mezclado se utiliza con éxito para mezclar de forma homogénea partículas inorgánicas (metales y cerámicas) en cualquier proporción, y está reportado en la bibliografía que propicia la distribución homogénea de las fases dispersas en una matriz, sea cual sea su naturaleza, influyendo en gran medida en las propiedades finales del material compuesto [2].

El Mg es un metal ligero ( $1,74 \text{ g/cm}^3$ ) de baja estabilidad termodinámica, por lo que con objeto de estabilizar las partículas de Mg en la suspensión mezcla final, se ha estudiado la modificación superficial de las partículas de Mg mediante la adición de dos tipos de estabilizantes, un polielectrolito y un tensoactivo o surfactante, en medio acuoso. Se han establecido los márgenes de estabilidad química de partículas comerciales de Mg en agua, y se ha probado el carácter protector anticorrosión de los modificadores superficiales utilizados. Este estudio de la estabilidad química del Mg servirá además de referencia a los ensayos de degradación de los materiales compuestos PLA, cuyo procesado y caracterización se presenta en capítulos posteriores.

El objetivo final de este capítulo es describir la optimización de la formulación de una suspensión mezcla PLA/Mg y validar un proceso de mezclado que permita preparar suspensiones y fabricar gránulos del compuesto, para su uso potencial como *feedstock* en el conformado a partir de la suspensión coloidal de distintos tipos de materiales: cintas, filamentos, piezas densas y piezas porosas.

#### **4.1.1 Estudio de la estabilidad química y coloidal de las partículas de Mg en agua**

En primer lugar, se llevó a cabo la caracterización de los polvos de partida en términos de morfología y tamaño de partícula. Tal y como muestran las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (MEB) de la Figura 4.1.1 (imagen general de la población de partículas y detalle de la superficie), las partículas de Mg (99,8%Mg) son esferas regulares con diámetros de 1 a  $100 \mu\text{m}$ . Esta morfología corresponde a un polvo obtenido por atomización por gas inerte (suministrado por NitroParis, España).

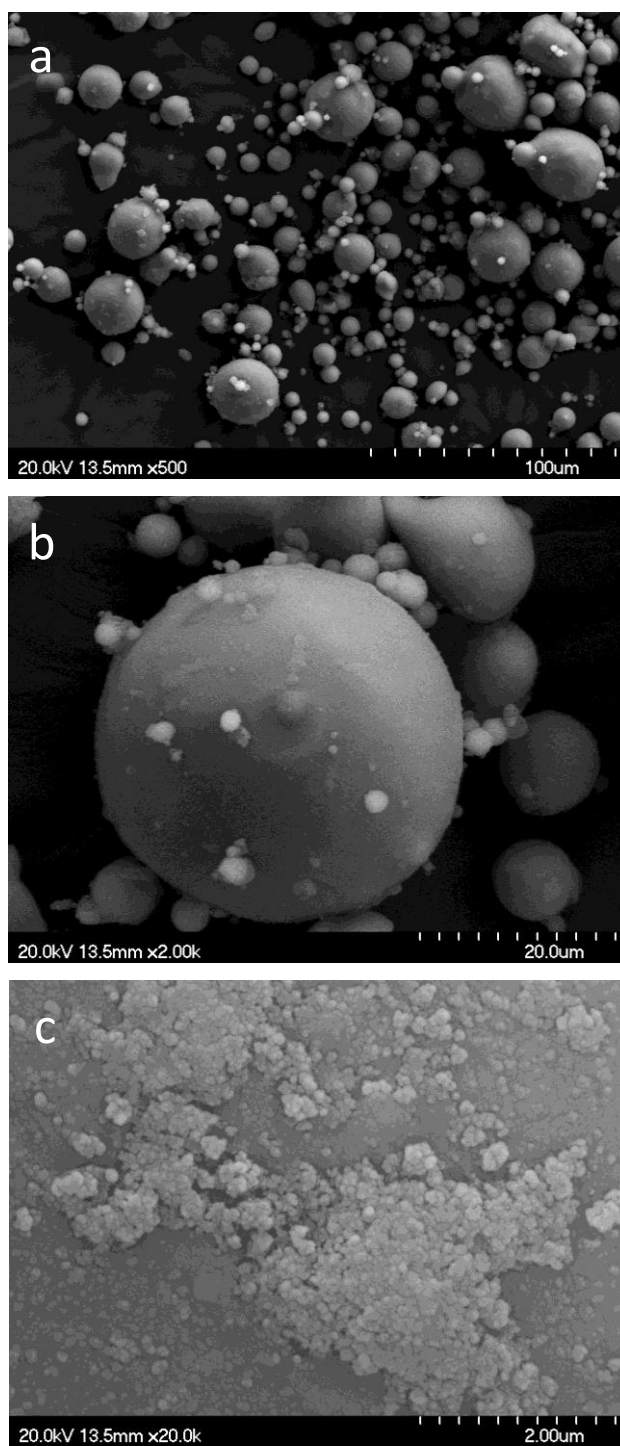


Figura 4.1.1. Micrografías MEB de las partículas de Mg a diferentes aumentos.

La Figura 4.1.2 muestra la distribución del tamaño de partícula en volumen del polvo de Mg determinado por difracción láser. El polvo presenta una distribución monomodal, lognormal, ligeramente sesgada a la derecha, con un diámetro medio ( $Dv_{50}$ ) de 29  $\mu\text{m}$ , una fracción de finos de 10  $\mu\text{m}$  ( $Dv_{10}$ ) y una fracción gruesa de 60  $\mu\text{m}$  ( $Dv_{90}$ ); lo que verifica las observaciones realizadas por microscopía electrónica.

La mayor dificultad para abordar el procesamiento coloidal de polvos metálicos (y no óxidos) en agua es controlar la estabilidad química de la superficie de la partícula [3]. En los metales, estas reacciones dependen de la naturaleza de los mismos, pero también del medio que los hace reaccionar, como en este caso el agua. Es crucial evitar la oxidación masiva y la corrosión de las partículas para poder llevar a cabo su procesado por mezcla coloidal.

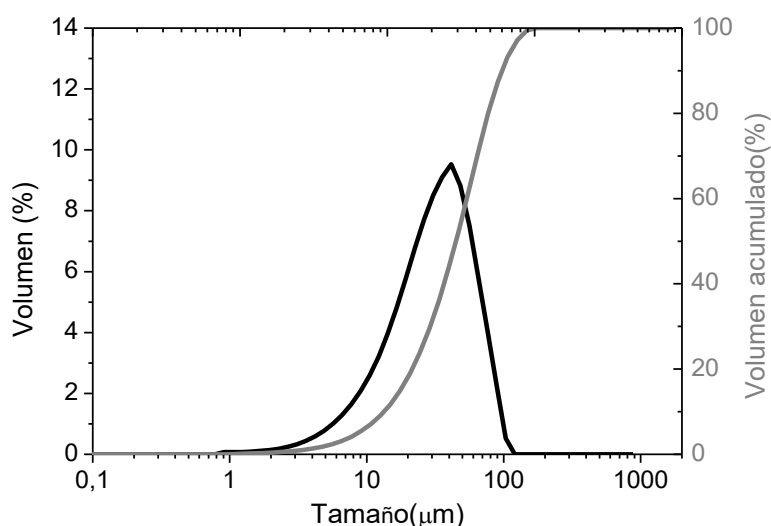
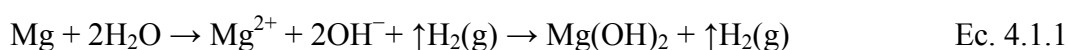


Figura 4.1.2. Distribución de tamaño de partícula del polvo comercial de Mg

Debido a su baja estabilidad termodinámica, el Mg reacciona con el agua y produce hidrógeno y/o hidróxido de Mg. La reacción general de corrosión de este metal es [4]:



En la Figura 4.1.3 se muestra el Diagrama de Pourbaix propuesto por Song *et al.* [5] en 2011. Cabe destacar que en este diagrama se ha suprimido la especie  $\text{Mg}^+$ , ya que en estudios posteriores se ha propuesto que esta es una especie hipotética hasta que su presencia sea demostrada [6]. Tal y como muestra el Diagrama de Pourbaix, en un medio a  $\text{pH} > 11,5$  el Mg reacciona formando hidróxido de magnesio,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , sobre la superficie de la partícula. En estas condiciones de pH, no se observa la disolución de iones  $\text{Mg}^{2+}$  en el medio. Por el contrario, en medios con pH más ácido ( $\text{pH} < 11,5$ ), donde la especie predominante es el  $\text{Mg}^{2+}$ , la oxidación/corrosión del metal podría llegar a provocar la degradación/disolución de la partícula.

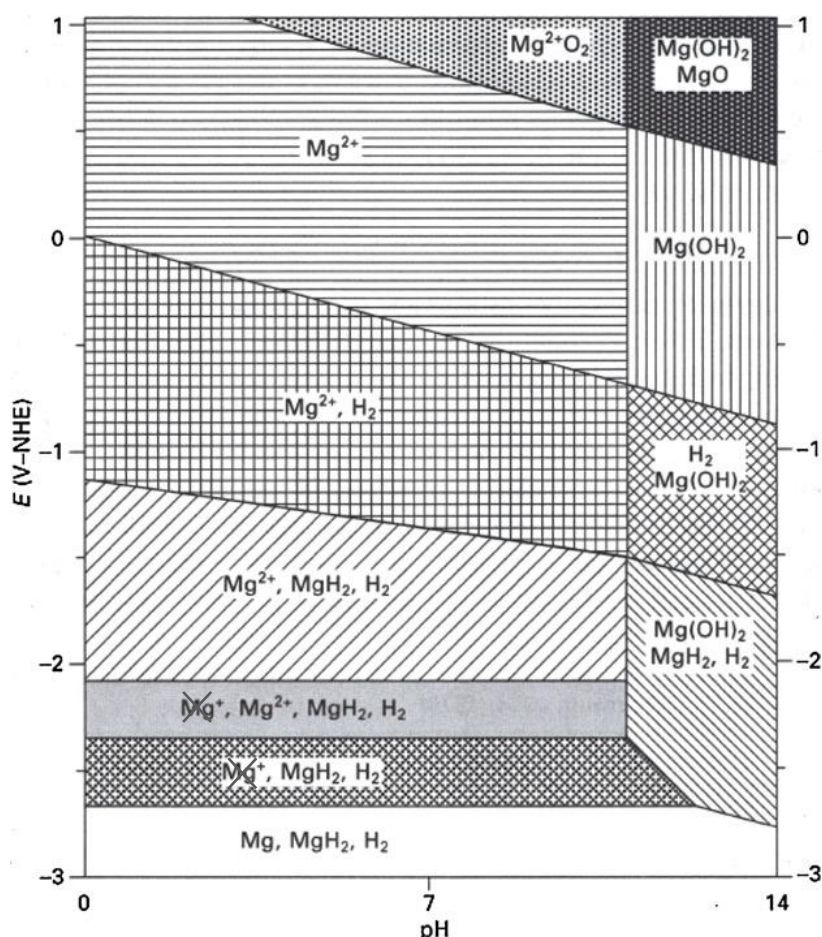


Figura 4.1.3. Diagrama de Pourbaix de Mg en agua. [5]

Dada su alta reactividad en agua, la primera medida para obtener una suspensión químicamente estable de partículas de Mg es basificar el pH del medio. Para establecer esta limitación química del proceso, se ha estudiado la reactividad química en suspensiones coloidales de las partículas de Mg utilizadas en este trabajo, en un rango de pH de 9 a 12. Para ello, se han preparado suspensiones con una concentración en partículas de Mg de 2 g/L y se ha utilizado hidróxido de tetrametil amonio (HTMA) como modificador del pH. La evolución del pH con el tiempo se midió durante 360 h.

Como se puede observar en la Figura 4.1.4, todas las suspensiones coloidales de Mg mantienen su pH inicial dentro de un rango estable, sin variaciones bruscas, determinándose diferencias en pH de  $\pm 0.3$  con el valor inicial. Los datos de evolución del pH con el tiempo muestran que la superficie de las partículas de Mg evolucionan ligeramente, pero no arroja resultados concluyentes, por lo que una vez transcurrido el tiempo de ensayo (360 h), las suspensiones fueron filtradas y las aguas residuales se analizaron mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente

(ICP-OES), mientras que el Mg filtrado se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X (DRX).

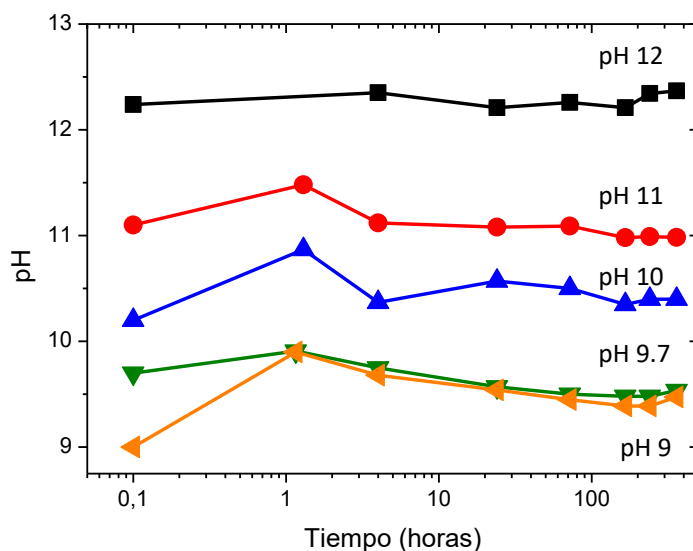


Figura 4.1.4. Evolución del pH con el tiempo de suspensiones preparadas en un rango de pH de 9-12.

En la Figura 4.1.5 se muestra la concentración de iones  $Mg^{2+}$ ,  $[Mg^{2+}]$ , en el medio frente al pH inicial de la suspensión. Para la suspensión preparada a un pH 9 la concentración de  $[Mg^{2+}]$  es muy elevada, alcanzando los 1600 ppm. La cantidad de  $[Mg^{2+}]$  disuelto en la suspensión disminuye conforme aumenta el pH. También se observa que solo a un pH superior a 11, la concentración de  $[Mg^{2+}]$  en la disolución está por debajo del límite de detección del equipo, lo cual es un indicativo de que las partículas de Mg crean y conservan su capa de pasivación, y dejan de reaccionar con el medio.

Estos datos concuerdan con los resultados reportados en la bibliografía consultada [7], que indican que la formación de capas protectoras y estables de hidróxido de magnesio ( $Mg(OH)_2$ ) solo es posible en entornos altamente alcalinos.



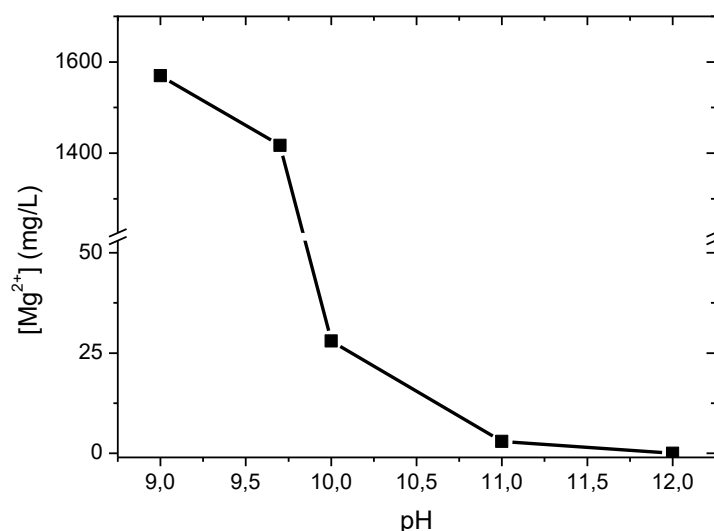


Figura 4.1.5. Concentración de iones  $Mg^{2+}$  en los medios de inmersión de las partículas a 360h a diferentes pH.

Las partículas de Mg recuperadas por filtración de las suspensiones preparadas a diferentes pH, se secaron y se analizaron mediante DRX. En la Figura 4.1.6 se muestra los difractogramas de las partículas de Mg después de 360 h en suspensión a pH 9; 9,7; 10, 11 y 12. En la figura se identifican, mediante los índices de Miller de los diferentes planos cristalográficos, las dos fases presentes en los compuestos: Mg (negro),  $Mg(OH)_2$  (rojo). Para cuantificar las diferencias entre el uso de los diferentes pH se realizó un ajuste Rietveld mostrado en la tabla adjunta de la Figura 4.1.6. Se observa, confirmando los resultados obtenidos por ICP, que conforme disminuye el pH de las aguas madres disminuye la fase pura de Mg y aumentan las señales del hidróxido (Figura 4.1.6a y b), debido a la corrosión del metal en medios no alcalinos.

La capa de  $Mg(OH)_2$  a partir de  $pH < 10$ , no tiene un carácter protector, sino que continúa creciendo, sin pasivar la superficie, tal y como muestra el diagrama de Pourbaix (Figura 4.1.3). Por otro lado, en la DRX no se detecta la fase MgO (cuya reflexión principal (200) se presenta a  $43^\circ$ ), como es de esperar según su tamaño nanométrico [6], por lo que se asume que la fase de reacción mayoritariamente presente es la forma hidratada.

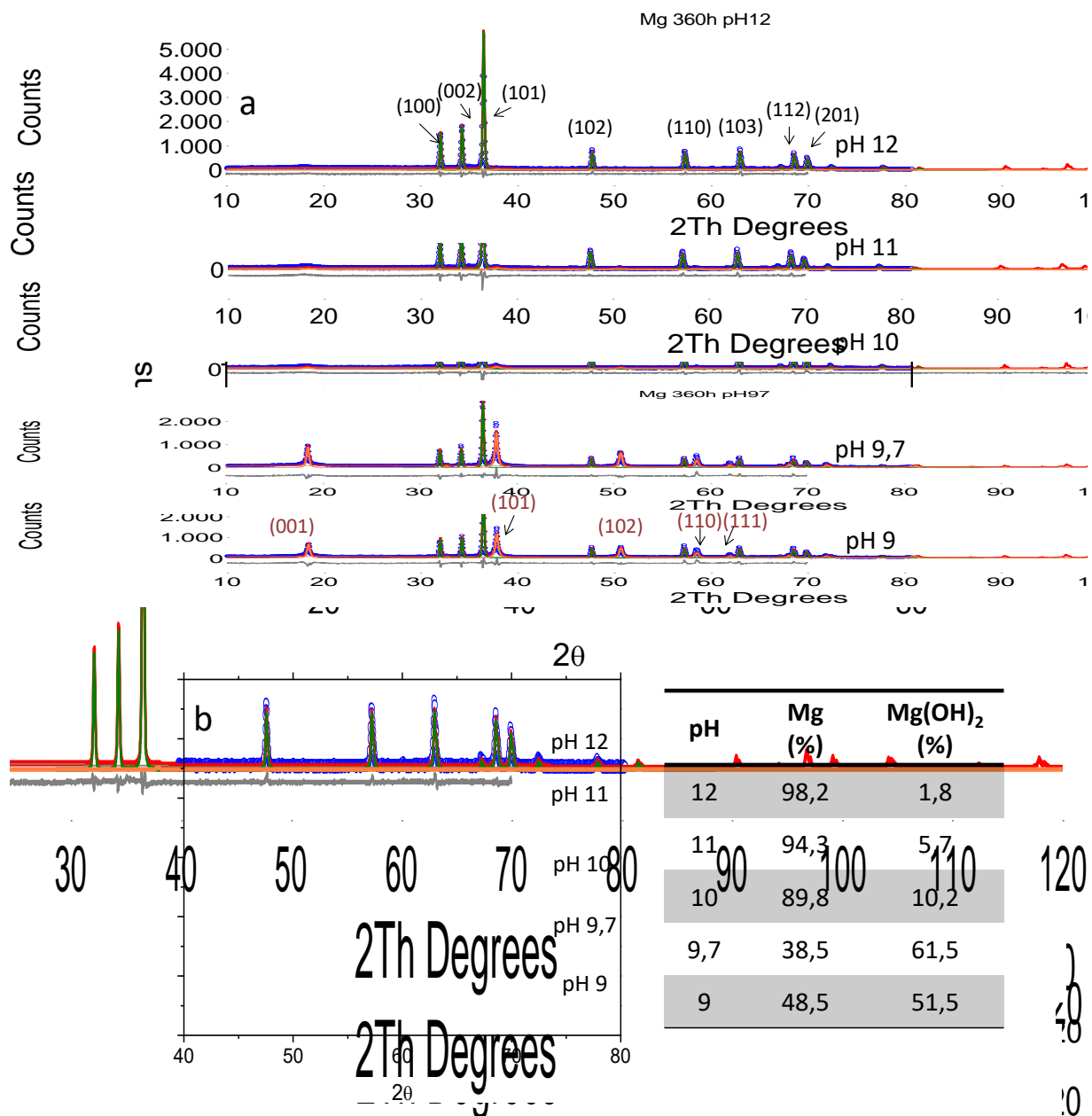


Figura 4.1.6. DRX de los polvos de Mg inmersos en agua a varios pH durante 360h (pH = 9, 9,7, 10, 11, 12) con indicación de los índices de Miller característicos del Mg (negro) y del Mg(OH)<sub>2</sub> (rojo) (a y b). Ajuste Rietveld cuantitativo de los DRX (tabla adjunta).

Una vez se evaluó la composición de las partículas de Mg inmersas en agua a diferentes pH, se llevó a cabo el análisis por MEB de las mismas, para definir las consecuencias de la degradación y/o pasivación de su superficie. En la Figura 4.1.7 se presentan imágenes de partículas de Mg después de 360 h en suspensión a pH 11 y 9. En ambos casos, la forma esférica de las partículas se conserva.

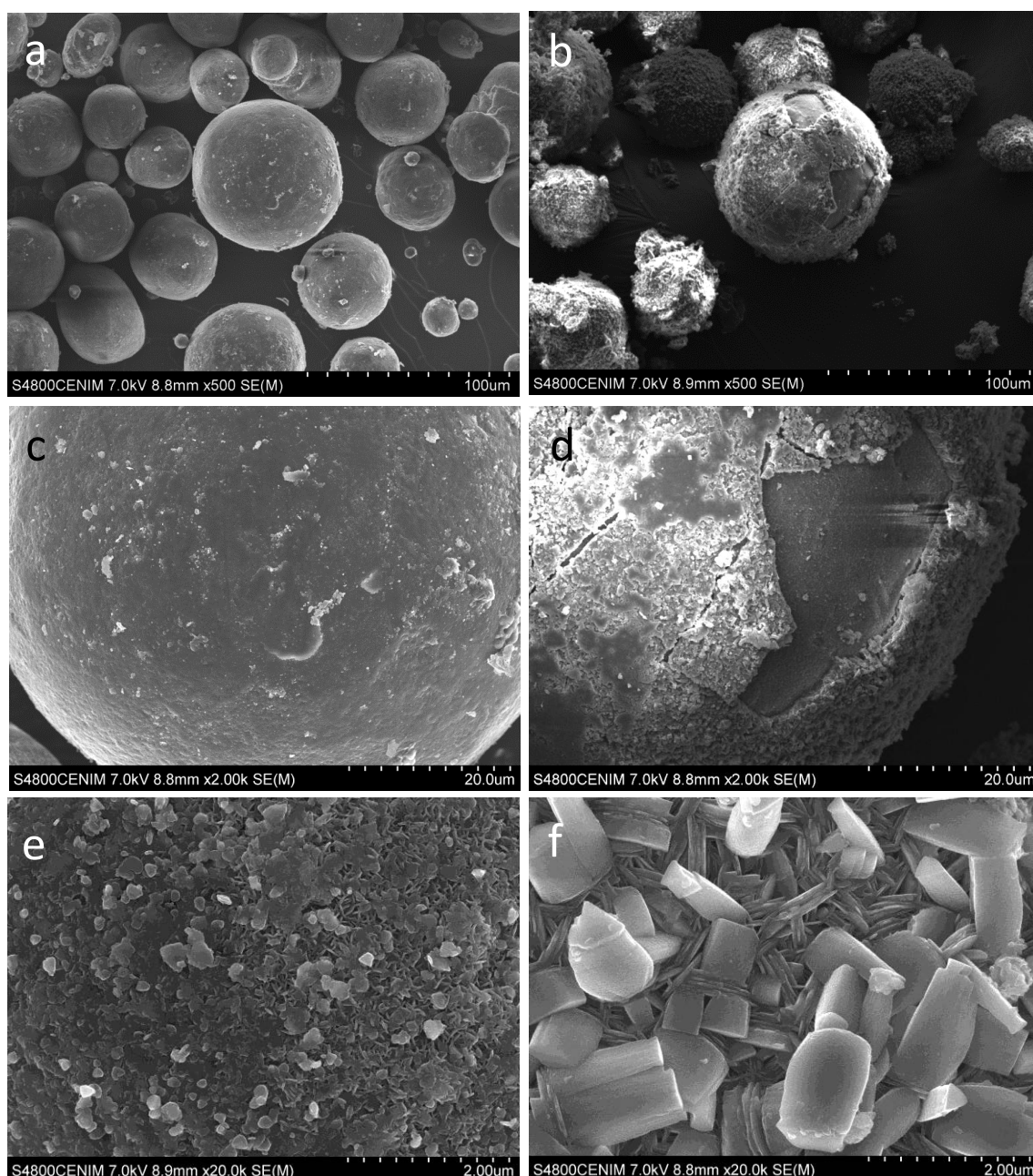


Figura 4.1.7. Micrografías de las partículas suspendidas a pH 11 (a, c y e) y a pH 9 (b, d y f)

En el caso del pH 9 (Figura 4.1.7b, d y f), se evidencia la formación de una capa gruesa que rodea las partículas. La capa de reacción, que está poco adherida, exhibe un comportamiento aparentemente frágil, ya que aparece localmente despegada de la superficie (Figura 4.1.7d). Una inspección detallada a mayores aumentos (Figura 4.1.7f) muestra los cristales que han crecido sobre la superficie de la partícula de Mg.

La Figura 4.1.7a, c y e muestra la superficie de las partículas de Mg mantenidas en suspensión en agua a pH 11. En contraposición a las imágenes de la superficie de las partículas suspendidas a pH 9, en este caso, una capa de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  delgada y estable (al

menos por 360 h), que apenas se intuye a pocos aumentos (Figura 4.1.7a y c), se forma alrededor de la partícula, manteniéndola aislada y protegida del medio líquido, y evitando su corrosión. A mayores aumento (Figura 4.1.7e), se puede observar la fase precipitada ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) en la superficie de las partículas de Mg que parece no cubrir toda la superficie.

Los mecanismos de pasivación/corrosión de superficies pulidas de Mg en placa (no en partículas) al contacto con agua han sido objeto de estudio debido al interés que suscita este material en el área de los biomateriales. Sendos trabajos publicados por Liu *et al* [8] y Santamaria *et al* [9], describen la formación de una capa doble de pasivación formada por  $\text{MgO}/\text{Mg}(\text{OH})_2$  a temperatura ambiente en solución acuosa en una amplia gama de valores de pH (pH 6-14).

Estos autores determinaron, utilizando técnicas espectroscópicas (Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos X, XPS, y espectroscopía de foto-corriente, PCS), la formación de una primera capa de  $\text{MgO}$  densa con un espesor no superior a los 3 nm formada al contacto con aire a temperatura ambiente, y una capa porosa y más gruesa de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , formada por la hidratación de la anterior con el  $\text{H}_2\text{O}$  ambiental. Una vez se introduce el Mg en  $\text{H}_2\text{O}$ , simplemente se produce un crecimiento de la capa de hidróxido por procesos de disolución-precipitación, cuyo espesor es función del tiempo de inmersión de la superficie de Mg en el medio líquido, y que alcanza a valores de pH neutros, espesores de 8 nm en el primer minuto de inmersión. Estudios posteriores han contribuido a describir el crecimiento de esta capa de corrosión/pasivación en las superficies de Mg para tiempos mayores de inmersión en agua destilada, en lo que se refiere a su composición, espesor y los mecanismos de formación.

Taheri *et al.* [10] describen, mediante la relación atómica por EDS de  $\text{Mg}/\text{O}$  y microscopía combinada de electrones e iones focalizados (FIB), la bicapa después de 48 h de inmersión en agua, formada por una primera capa externa de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  relativamente fina (700 nm) y porosa que se forma sobre una capa más delgada (50-100 nm) y porosa de  $\text{MgO}$ . Mediante MEB los autores describen el mecanismo de formación del hidróxido, ya que las micrografías muestran la cristalización de la fase  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  en forma de placas que ya ha sido asociada al mecanismo de formación de disolución-precipitación. Por otro lado, Unocic *et al.*[11], mediante TEM, XPS y espectroscopía de masa de iones secundarios (SIMS) observan una capa de 10  $\mu\text{m}$  principalmente de  $\text{MgO}$ , parcialmente hidratada. Estudiando las diferencias que se

observan entre los numerosos autores, en este trabajo se describen cómo puede variar el espesor, la porosidad y/o la composición de la bicapa en función de factores como el tamaño de grano, la preparación de la superficie o el volumen de disolución (relacionado con la saturación de especies en el medio) donde se introduce la muestra. No se ha encontrado en la bibliografía estudios de la bicapa  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{MgO}$  en Mg cuando este se halla en forma de partículas, como es nuestro caso.

En base a estos estudios previos, se llevó a cabo el estudio de las secciones transversales de las partículas, una vez fueron embutidas en resina epoxi y pulidas, sin el uso de agua como lubricante para no inducir la degradación de la muestra y poder observar la capa de productos de corrosión en la interfaz partícula/resina (Figura 4.1.8). En la Figura 4.1.8b se comprueba que a pH 9, la degradación del Mg es elevada y que la corrosión del metal tiene lugar radialmente, formando una corona de hidróxido. La fase  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , Figura 4.1.8b y d, tiene un espesor mínimo de 5  $\mu\text{m}$ . Aunque no podamos distinguir claramente la fase MgO de la fase  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , de una forma similar a como se describe en la bibliografía para superficies planas de Mg [10], en la capa de degradación que rodea las partículas se intuyen dos estructuras, una externa, ancha y porosa, asociada al hidróxido como se ha visto previamente mediante análisis de DRX, Figura 4.1.6, y otra interna, fina y de mayor densidad, que se podría asociar al óxido, aunque no se detectó mediante DRX.

A pH 9, la presencia de una capa de un espesor tan alto muestra que, para tiempos largos de inmersión (360 h), la reacción de disolución-precipitación del hidróxido/óxido sigue teniendo lugar, y la superficie de la partícula no llega a pasivarse.

Por otro lado, la micrografía de la sección transversal de las partículas suspendidas a pH 11 (Figura 4.1.8a y c) muestra una reactividad mucho menor para el mismo tiempo de inmersión/suspensión. En este caso, el análisis Rietveld muestra que la fracción de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  pasa del 50-60% en suspensiones a pH 9-10, a < 6% en suspensiones preparadas a pH 11-12. Por ello, podemos decir que a pH > 11, la capa de óxido/hidróxido formada en la superficie de las partículas de Mg pasiva la superficie en medios alcalinos, protegiéndola de la degradación [7]. Al observarse la superficie de las partículas mediante MEB a altos aumentos, sí se evidencia la cristalización de una fase muy similar a la observada a pH más ácidos (morfología en forma de placas) pero que no parece cubrir la superficie de todas las partículas, ni la de una partícula en su totalidad.

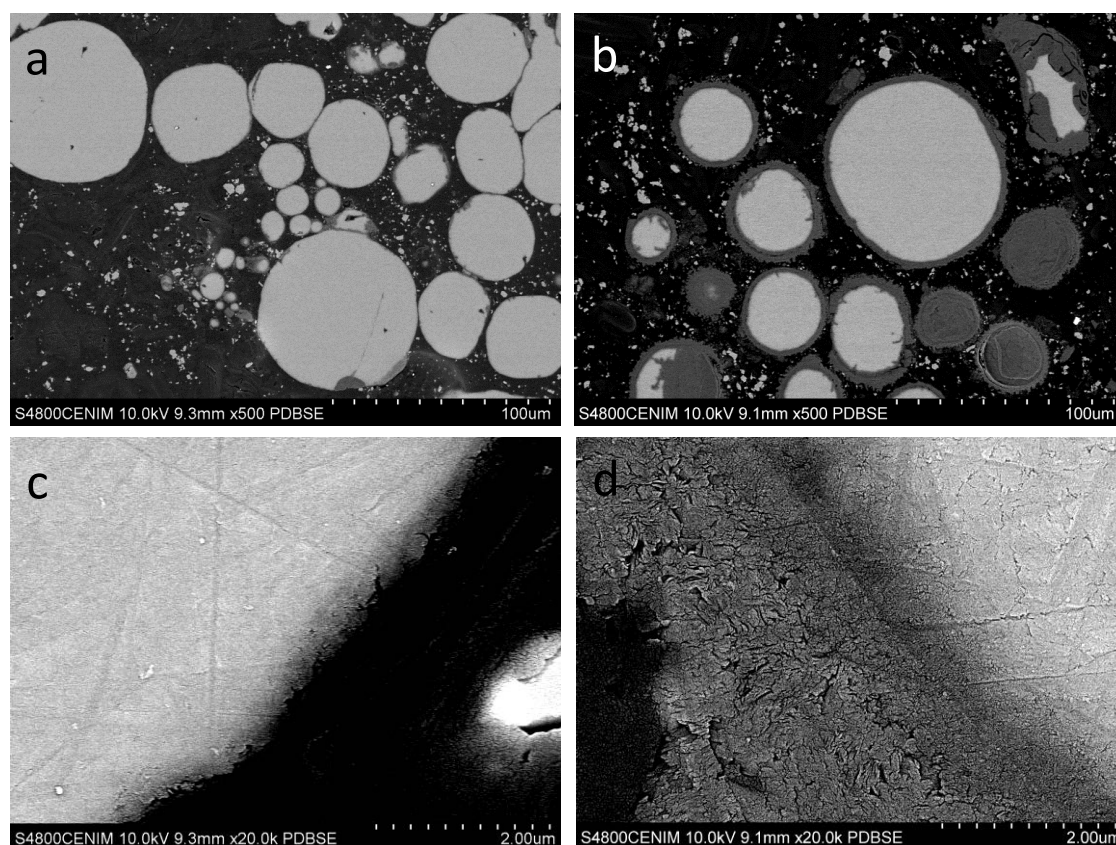


Figura 4.1.8. Sección transversal de las partículas inmersas en agua a pH 11 (a y c) y pH 9 (b y d). Capa de degradación en superficie  $\text{MgO/Mg(OH)}_2$  (c y d).

En la Figura 4.1.9 se muestran dos micrografías de la superficie de diferentes partículas expuestas al medio acuoso a pH 11. Como se puede observar, la formación de la capa no es homogénea y varía tanto entre diferentes partículas como en la superficie de una misma partícula. En este sentido, Taheri *et al.* [12] caracterizó la corrosión del Mg a pH alcalinos y encontró un comportamiento similar al que se observa en estos materiales, donde el recubrimiento de hidróxido no se extiende por toda la superficie. Debido a que la morfología del recubrimiento es similar a la observada a pH más ácidos, propone el mismo mecanismo de formación. En el caso de las partículas de Mg, se puede concluir el mismo mecanismo de disolución-precipitación en la superficie de las partículas, que es menos homogéneo debido a que el proceso es menos favorable en medios alcalinos y únicamente ocurre en sitios preferenciales.

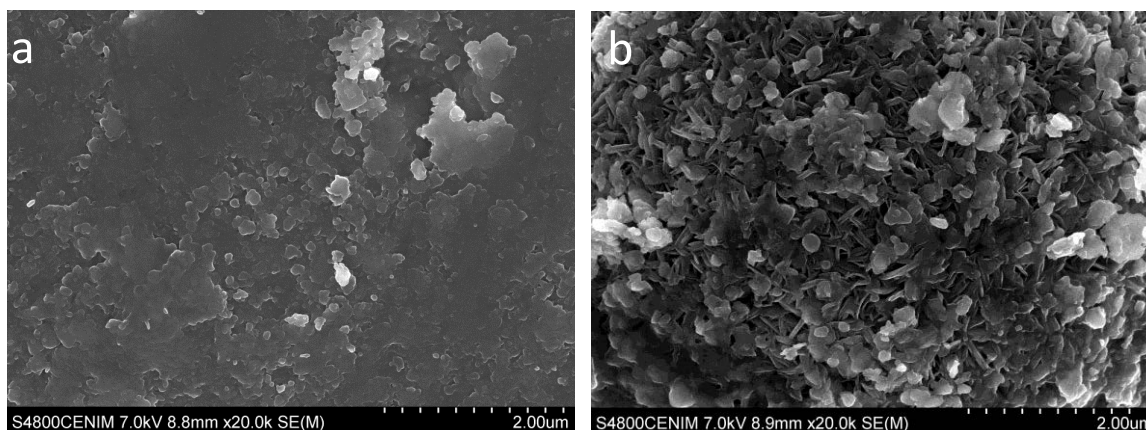


Figura 4.1.9. Micrografías de la superficie de distintas partículas de Mg expuestas a pH 11 durante 360h de inmersión.

En conclusión, hay evidencias de que la corrosión de las partículas esféricas de Mg en agua es similar a lo que ya se ha reportado en la bibliografía para probetas de Mg planas. Esta similitud puede deberse al volumen inferior de los productos de corrosión, tanto del óxido como del hidróxido que cubren parcialmente la superficie de las partículas, que evita la generación de tensiones en el recubrimiento durante su crecimiento y por tanto no genera diferencias entre el estudio de una superficie curva o lisa. El mecanismo de corrosión pasa por la formación de una capa de MgO en la superficie, que reacciona mediante fenómenos de disolución/precipitación, formando una capa más externa de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . Esta última crece en mayor proporción en suspensiones a  $\text{pH} < 11$ , corroyendo la partícula, mientras que a  $\text{pH} > 11$  forma una capa densa que podría contribuir a la protección de la partícula.

En consecuencia, para preservar la estabilidad química durante el procesamiento de las suspensiones de Mg, éstas deben prepararse a  $\text{pH} > 11$ . En cuanto a la microestructura superficial de las partículas en este rango de pH, el diagrama de Pourbaix (Figura 4.1.3) muestra que en un amplio rango de potenciales,  $E$ , se produce la precipitación de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , y la reacción no progresa. En base a los DRX cuantitativos y el ICP de las aguas madre, el contenido de hidróxido de la muestra es muy bajo, pero siempre está presente. Por tanto, teniendo en cuenta la composición química de la superficie de las partículas, y con objeto de dispersarlas y estabilizarlas en suspensión, se ha considerado la adición de estabilizantes, moléculas orgánicas y/o polímeros, que al adsorberse sobre la superficie de las partículas, las mantengan dispersas y alejadas del disolvente en el que están suspendidas, creando un volumen de exclusión de agua *ad hoc* al tipo de procesamiento diseñado [3], [13]. En este caso, hemos considerado la dispersión del

polvo de Mg con dos aditivos diferentes, un polielectrolito catiónico, la polietilenimina (PEI), y un surfactante o tensoactivo, el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB).

La PEI utilizada es un polielectrolito catiónico de cadena ramificada y alto peso molecular ( $P_m = 25.000$  KDa - Tabla 3.1), que contiene grupos amino primarios, secundarios y terciarios ( $-NH_x-$ ) en una proporción de 1:2:1, y presenta la particularidad de mantener cierta carga positiva a pH elevado ( $pH > 11$ ) [14], por lo tanto, esta carga positiva facilitará su adsorción en la superficie cargada negativamente del sistema  $Mg/MgO/Mg(OH)_2$ . La adsorción de esta cadena polimérica sobre la superficie de las partículas proporciona a la suspensión en agua un mecanismo de estabilización electrostérico [15].

Por otro lado, el CTAB es un surfactante catiónico, que contiene una parte hidrofílica formada por una amina cuaternaria cargada positivamente y una cadena hidrófoba alquílica. La cadena de CTAB se adsorbe en la superficie de la partícula de Mg hidratada por su parte hidrofílica, recubriéndola por completo y propiciando a la suspensión un mecanismo de estabilización puramente estérico [15]. Un esquema representativo de cómo se lleva a cabo la adsorción de los estabilizantes se muestra en la Figura 4.1.10.

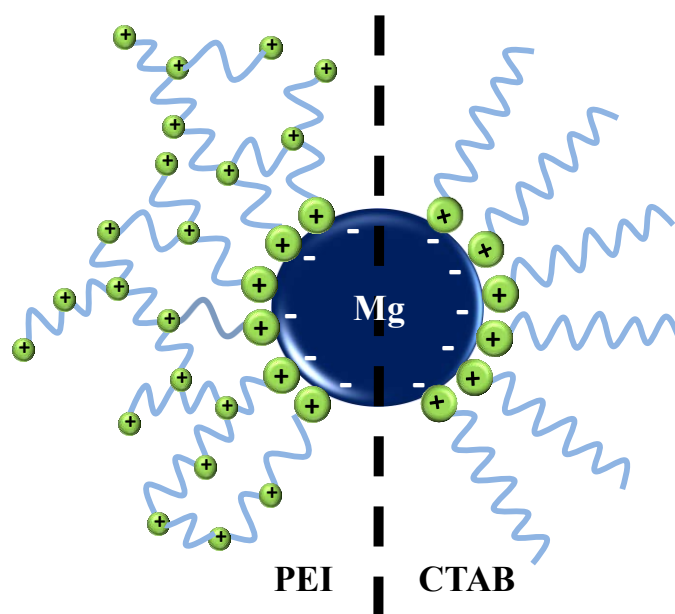


Figura 4.1.10. Esquema representativo de la adsorción de un polielectrolito (PEI) y un surfactante (CTAB) en la superficie del Mg cargado negativamente.



La adición de dispersantes, tanto en el caso del CTAB, como con la PEI, ha de ser la exacta para recubrir la superficie de las partículas en suspensión, en las condiciones de pH de trabajo ( $11 < \text{pH} < 12$ ). Un exceso de aditivo tendría que eliminarse en etapas posteriores, y en el caso del CTAB podría llegar a provocar un cambio en el mecanismo de estabilización, ya que es bien conocido que al superar la concentración micelar crítica (CMC), el surfactante se ordena, formando una estructura de doble capa sobre la superficie de la partícula, dotándola de nuevo de carga.

La cantidad óptima de dispersante necesaria para recubrir la superficie de la partícula se evaluó mediante medidas de potencial zeta. Para ello, se midió la evolución del potencial zeta mediante la adición de una cierta cantidad de PEI/CTAB a una suspensión acuosa de 0,1 g/L de Mg a  $11 < \text{pH} < 12$  (HTMA). La cantidad de PEI/CTAB evaluada varió de 0 a 1,2% en masa con respecto al contenido en sólidos. La Figura 4.1.11a muestra la evolución del potencial zeta en función de la adición de polielectrolito. El potencial zeta para la partícula desnuda tiene un valor de aproximadamente -45 mV, que sería ya una fuerza repulsiva lo suficientemente alta como para garantizar la estabilidad de la suspensión [9],[16]. El potencial zeta del Mg cambia de negativo a positivo cuando el PEI se adsorbe sobre la superficie de Mg, y alcanza el valor máximo para una adición de 0,2% en masa, lo que indica que la superficie de Mg está completamente cubierta con PEI. En el caso del CTAB, observamos que el comportamiento es muy similar al PEI. Al ser partículas micrónicas la superficie específica es muy baja respecto a partículas nanométricas y la cantidad necesaria para recubrirlas también, por lo que un 0,2% de dispersante es suficiente. Al ser un surfactante, la cabeza hidrofílica/catiónica debería anular la carga negativa de la partícula de Mg. El hecho de que aparezca una pequeña carga positiva residual se asociaría a que algunas moléculas de CTAB cambian su conformación colocándose con la colas apolares hacia la partícula, dejando expuesta la carga positiva cuando se llega al punto de saturación de la superficie del Mg (Figura 4.1.11b), lo que propicia la carga superficial levemente positiva medida.

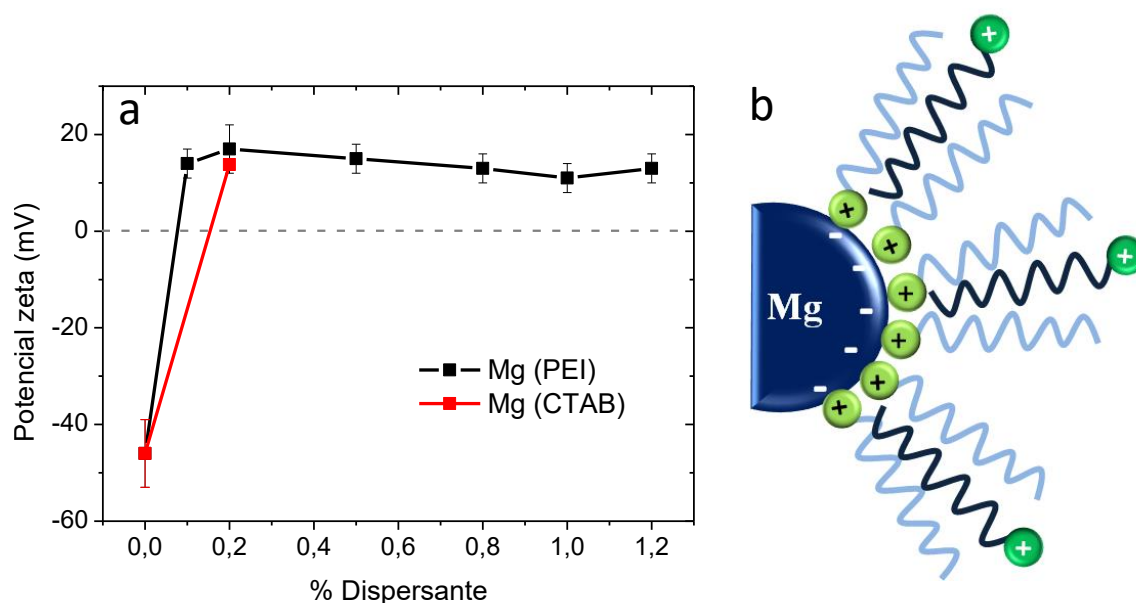


Figura 4.1.11 . Evolución del potencial zeta de la suspensión de Mg con la adición de PEI y CTAB (a) y esquema del cambio de conformación de las moléculas de CTAB a saturación (b).

Una vez se analizó la cantidad de dispersante adecuada para estabilizar las partículas de Mg, se llevó a cabo el estudio de la evolución de la degradación durante 360 h, de las partículas de Mg con un 0,2% en masa de estabilizante a varios pH. En la Figura 4.1.12 se presenta la concentración de iones  $Mg^{2+}$ ,  $[Mg^{2+}]$ , en el medio frente al pH de la suspensión para las partículas de Mg estabilizadas con PEI y CTAB, analizado mediante ICP. Se observa una tendencia similar a la estudiada en la Figura 4.1.5, la concentración de  $[Mg^{2+}]$  aumenta conforme se acidifica el medio. Sin embargo, con el uso de los dos estabilizante se observa una disminución notable de la disolución del Mg, Con la partícula desprotegida se alcanzaban los 1600 ppm a pH 9 mientras que con CTAB la concentración es de 100 ppm y con PEI de menos de 60 ppm. Por lo tanto, gracias a este ensayo se determina que en los pH más reactivos (pH 10 y 9) la disolución de Mg es considerablemente mayor en el caso de las partículas protegidas con CTAB que con PEI. Esto indica que la capacidad protectora del PEI es considerablemente mayor que la del surfactante CTAB para el Mg en su zona de disolución. En la zona estable (pH 11-12), la concentración de  $[Mg^{2+}]$  en la disolución está por debajo del límite de detección del equipo, lo cual es un indicativo de que las partículas de Mg crean y conservan su capa de pasivación, y dejan de reaccionar con el medio como ya se observó en los ensayos de las partículas sin estabilizar.

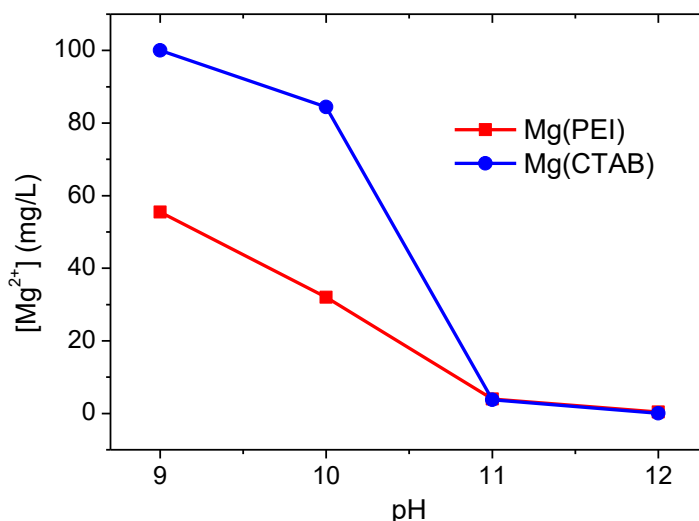


Figura 4.1.12. Concentración de iones  $Mg^{2+}$  en los medios de inmersión de las partículas estabilizadas con PEI y CTAB a 360 h a pH 9, 10, 11 y 12.

Mediante DRX se ha analizado la presencia de la fase Mg y de la fase  $Mg(OH)_2$  en los polvos una vez se han degradado durante 360 h. Los resultados de los dos pH extremos, pH 9 y 12, se muestran en la Figura 4.1.13, en la que los picos característicos del  $Mg(OH)_2$  se marcan con (\*). La intensidad relativa de estos picos concuerda con los resultados obtenidos en ICP ya que es mucho menor que en el caso de la partícula desnuda. Además también se evidencia que los picos a pH 12 son prácticamente inapreciables, ya que se podría corresponder con el hidróxido que hay en superficie formando la doble capa de pasivación junto con el MgO. En cuanto a los pH más ácidos sí se observa que la cantidad de hidróxido en superficie de las partículas con CTAB es mayor que para el caso del PEI.

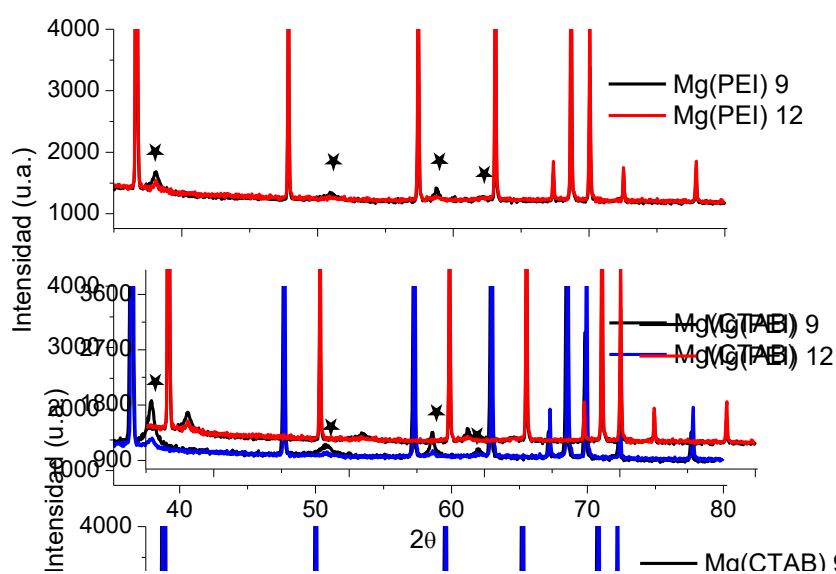


Figura 4.1.13. DRX de los polvos de Mg estabilizados con PEI y CTAB inmersos en agua a varios pH durante 360h (pH = 9, 10, 11, 12). Indicados los picos del  $Mg(OH)_2$ .

Para establecer mejor las diferencias entre el uso de PEI y CTAB en cuanto a la degradación del Mg en agua, se llevó a cabo el estudio de la evolución del potencial zeta, frente al pH, de las partículas de Mg desnudas o con un 0,2% en masa de estabilizante. En la Figura 4.1.14 se muestra el potencial zeta de las tres suspensiones a los cuatro pH de trabajo (9, 10, 11 y 12); un intervalo de trabajo corto debido a que a pH más ácidos,  $< 9$ , la degradación del Mg es tan rápida que no permite mantener la estabilidad de las partículas, ni medirlas.

La gráfica muestra que la carga superficial del Mg se mantiene negativa en todo el intervalo de estabilidad, aunque observamos que el valor de potencial aumenta fuertemente en valor absoluto conforme nos acercamos al pH más estable químicamente, alcanzando un valor de -42 mV a pH 12, suficientemente alto para poder formular suspensiones dispersas y estables mediante el mecanismo de repulsión electroestática. En la gráfica se constata la adsorción de los dos modificadores, al observar el cambio de signo de la carga superficial en todo el rango de pH por adición de 0,2% de PEI y/o CTAB. A pH 11 y 12 las partículas estabilizadas mediante PEI y/o CTAB son muy similares y no presentan la disminución de potencial zeta observada para las partículas desnudas, lo cual evidencia que la partícula está estabilizada, y la capa de corrosión de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  no progresa, como también se comprobó mediante ICP y DRX. Sin embargo, a pH 10 y 9 observamos una diferencia notable (de 16 mV a 29 mV) en los valores de potencial zeta al estabilizar con uno u otro aditivo. Las partículas estabilizadas con CTAB presentan un aumento notable de pZ a partir del pH 10 que puede asociarse a la disolución de la partícula de Mg dando especies  $\text{Mg}^{2+}$  o especies hidratados  $\text{MgOH}_2^+$  o a los propios protones de acidificar el medio ( $\text{H}^+$ ), que se adsorben en superficie y contribuyen a la medida de la carga positiva. Por otro lado, el aumento de la concentración iónica en el medio puede variar la CMC (concentración crítica micelar) del CTAB. Ya se observó que había cierta carga residual positiva en la superficie de las partículas estabilizadas con CTAB, lo cual indica que hay cierta cantidad de CTAB libre en el medio que puede modificar la doble capa mostrada en la Figura 4.1.11b aumentando la carga superficial de la partícula.

La carga de las partículas estabilizadas con PEI no sufre apenas modificación en el rango de pH estudiado. A pH 9 se produce un aumento de la carga más discreto (hasta 21mV) asociado al comienzo de la degradación, provocado por la presencia de especies  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{MgOH}_2^+$  o debido a los propios protones.

En base a estos resultados se puede concluir que aun añadiendo la cantidad óptima de ambos dispersantes, el carácter protector de la corrosión no es suficiente a  $\text{pH} < 10$  en el caso del CTAB y  $\text{pH} < 11$  en el caso del PEI. Por lo tanto, podemos concluir que el polielectrolito actúa mejor inhibiendo la degradación del Mg que el surfactante y alarga la zona de pasivación.

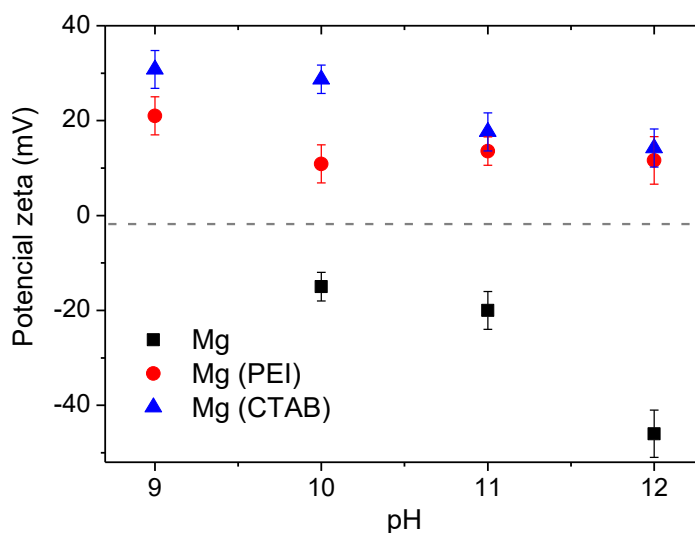


Figura 4.1.14. Variación del potencial Z frente al pH en suspensiones de partículas de Mg desnudas, partículas protegidas con PEI y con CTAB.

Una vez se ha analizado la cantidad de dispersante óptimo para poder preparar las suspensiones se llevó a cabo el estudio reológico de las mismas. Para preparar suspensiones concentradas y homogéneas se debe llevar a cabo un proceso de dispersión que rompa los posibles agregados de partículas formados antes y durante la puesta en suspensión. El método seleccionado y más efectivo es el de la molienda en un molino de bolas durante 45 min, ya que debido a la baja dureza que posee el Mg, una molienda más agresiva podría modificar la forma esférica de las partículas.

Al aumentar el contenido en sólidos de las suspensiones, la adsorción de un aditivo catiónico (polielectrolito o surfactante) en la superficie de las partículas de Mg, y su efecto en la química coloidal, determina la formación de estructuras por interacción de las partículas en suspensión y con ello su capacidad de flujo o reología. La reología en nuestro trabajo no es un parámetro crítico, pero sí determinante. La viscosidad de las suspensiones de Mg ha de ser lo suficientemente baja para asegurar una homogénea modificación superficial de las partículas, y ha de alcanzarse un compromiso entre la

reología y la concentración de partículas en suspensión, para no lastrar en tiempo el proceso de mezclado y la fabricación de materiales.

La Figura 4.1.15 muestra las curvas de viscosidad frente a velocidad de cizalla en función de la adición de PEI y CTAB, que se llevó a cabo a un valor fijo de 25% en volumen de Mg para el caso del PEI y 40% para el caso del CTAB. Las suspensiones estabilizadas con CTAB son pseudoplásticas, mientras que las dispersadas con PEI tienen un comportamiento dilatante a baja cizalla. Al comparar los reogramas, se observa que a pesar de la elevada diferencia en contenido en sólidos (25% frente a 40%), los valores de viscosidad de las suspensiones dispersas con CTAB y PEI son similares al aplicar una cizalla de 100 a 1000 s<sup>-1</sup>, y no sobrepasan los 10 mPa.s. Este dato evidencia la mayor capacidad de dispersión del CTAB. Al adicionar un 0,2% de CTAB, la baja interacción entre partículas favorece la incorporación de un mayor número de ellas a la suspensión, sin gravar en exceso la viscosidad de la misma. El comportamiento a bajas cizallas (<100 s<sup>-1</sup>) es completamente diferente. El carácter hidrófobo de la cadena de CTAB adsorbida a la partícula dota a la suspensión de un comportamiento pseudoplástico, por el que al disminuir la velocidad de cizalla aumenta la viscosidad de la suspensión. Mientras, en el caso del PEI, su carácter hidrófilo y la baja concentración de partículas provocan un comportamiento levemente dilatante a cizallas bajas.

La evolución de la viscosidad de la suspensión a baja cizalla está relacionada con la homogeneidad de la misma. Con PEI, al disminuir la viscosidad de la suspensión se pueden llegar a producir segregaciones de fases por sedimentación de las partículas, ya que a pesar de la baja densidad del Mg, el tamaño de las partículas utilizadas es muy elevado. Sin embargo, con CTAB, el aumento de la viscosidad a medida que la suspensión está menos cizallada propicia el efecto contrario, la propia reología mantiene las “pesadas” partículas de Mg en suspensión a pesar de que el fluido esté en total reposo. Por ello, se puede decir que las suspensiones estabilizadas con CTAB son las que presentan el mejor comportamiento reológico, pseudoplástico, mientras que las dispersadas con PEI también son estables a altas velocidades de cizalla.

En los reogramas de la Figura 4.1.15, también observamos cómo la adición en exceso de los aditivos lastra la reología de la suspensión. Cuando se incrementa la cantidad de PEI o CTAB determinada para recubrir la superficie de la partícula, parte del aditivo queda disuelto en el medio líquido, perturbando el flujo de la suspensión. Por un lado,

las cadenas de la PEI, un polímero ramificado, que quedan excluidas de la superficie de los coloides, promueven la aglomeración y la floculación de partículas, y la viscosidad aumenta como se muestra en la gráfica. Por otro lado, la adición de una mayor cantidad de CTAB favorece la formación de la micela en forma de doble-capa (Figura 4.1.11b), y con ella la distorsión del flujo de la suspensión al estar las partículas más cargadas y aumentar la interacción entre ellas [17]. De esta forma se observa que la adición adecuada de dispersante, además de aumentar la estabilidad química del Mg y prevenir la reacción de la superficie, aumenta su estabilidad coloidal, mantiene las partículas suspendidas, dispersas y aisladas, y hace disminuir la viscosidad de la suspensión mejorando su fluencia.

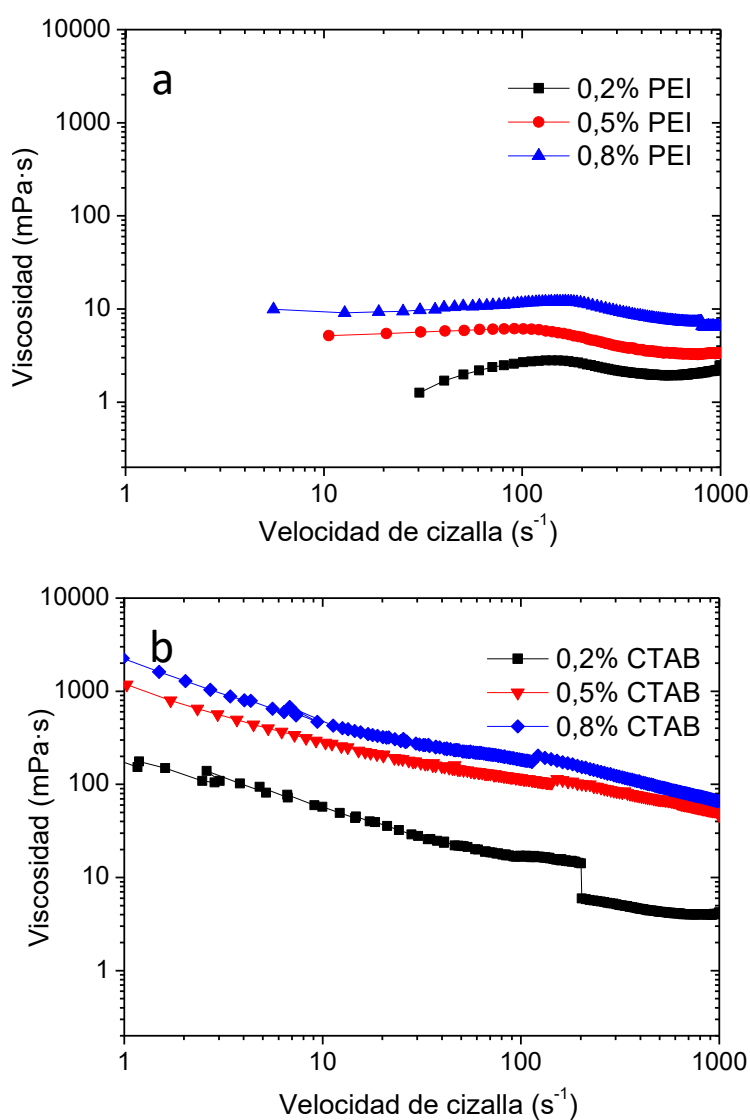


Figura 4.1.15. Curvas de viscosidad frente a velocidad de cizalla frente a la adición de PEI (a) y CTAB (b).

### 4.1.2 Granulación de las suspensiones de PLA/Mg

Teniendo en cuenta la estabilidad química y coloidal de las partículas de Mg, se fue incrementando el contenido en sólidos de las suspensiones, manteniendo las condiciones óptimas ajustadas: añadiendo 0,2% en masa sobre el contenido en sólidos de PEI/CTAB en suspensiones acuosas a pH 12.

Se midieron las curvas de flujo de las suspensiones de Mg dispersas con PEI (en el caso más adverso) para concentraciones de partículas de 22 hasta 40% en volumen, con el fin de establecer el límite de viscosidad de las suspensiones en el proceso de modificación superficial. El gráfico de la Figura 4.1.16 muestra la variación de la viscosidad registrada para una velocidad de cizalla de  $100 \text{ s}^{-1}$  frente a la fracción en volumen de sólido para las suspensiones dispersadas con PEI. La viscosidad evoluciona proporcionalmente al contenido en sólido de la suspensión, hasta alcanzar el 37% en volumen de Mg. Mayores contenidos de sólidos provocan un característico aumento exponencial de la viscosidad [18]. En cambio, debido a su mayor capacidad como estabilizante, las suspensiones con CTAB preparadas al 40% en volumen de contenido en sólidos mantienen la viscosidad de la suspensión (Figura 4.1.16). En base a estos resultados se estableció el 35% en volumen como contenido en sólidos óptimo para la modificación superficial y estabilización de las partículas de Mg en agua, mediante la adsorción tanto de CTAB como de PEI.

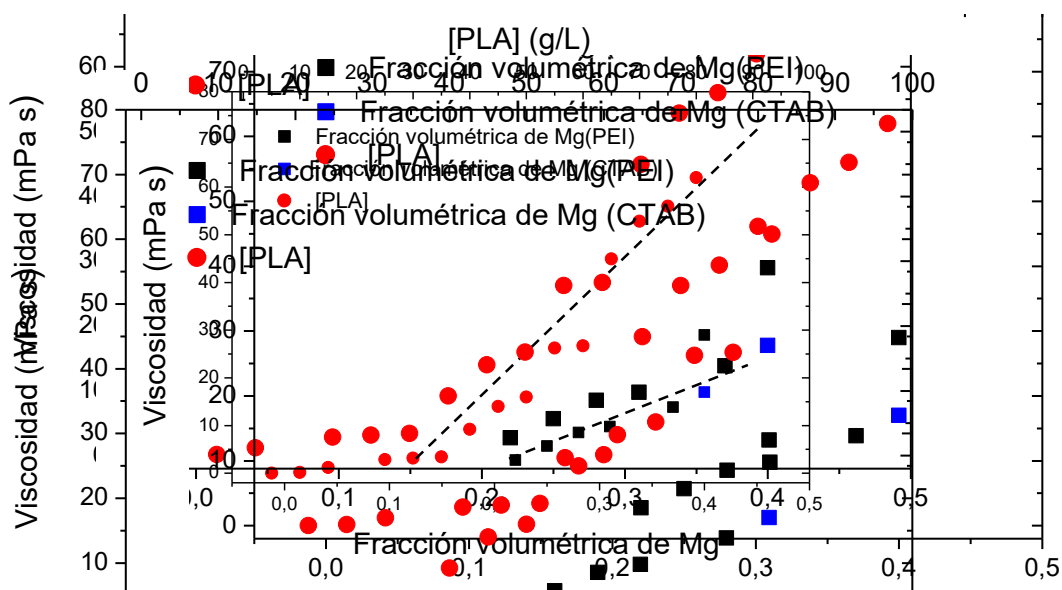


Figura 4.1.16. Estudio de viscosidad frente a fracción de volumen de las suspensiones de Mg (estabilizadas con PEI o CTAB) y de las disoluciones de PLA frente a la concentración.



Por su parte, el PLA es soluble en disolventes apróticos polares pero insoluble en disolventes próticos polares y no polares [19]. En este caso, se requería el uso de un disolvente orgánico de baja viscosidad para que no comprometiera la estabilidad de la suspensión de Mg durante el mezclado, al tiempo que no redujera drásticamente la viscosidad final de la mezcla para así mantener la dispersión de las partículas de Mg. El THF fue el disolvente seleccionado para preparar las disoluciones de PLA, ya que disuelve con facilidad este polímero, tiene baja viscosidad y admite cierta cantidad de agua.

El estudio de la solubilidad de PLA en THF se llevó a cabo para concentraciones que varían de 5 a 80 g/L, donde la viscosidad se evaluó en términos de concentración de PLA. A efectos comparativos y de diseño de mezclas, la curva de viscosidad de la disolución en función de la concentración de PLA se muestra en la Figura 4.1.16. Una disolución de PLA de 30 g/L está en el mismo intervalo de viscosidad que las suspensiones de 35% en volumen de partículas de Mg, sin superar en ningún caso los 100 mPa·s. El aumento de la concentración de PLA en disolución supone un incremento de viscosidad, pero también hace variar el grado de miscibilidad con agua, comprometiendo la solubilidad del PLA.

Se ha realizado un sencillo estudio visual para determinar el punto de precipitación del PLA en función de la mezcla de disolventes, THF:H<sub>2</sub>O (Figura 4.1.17).

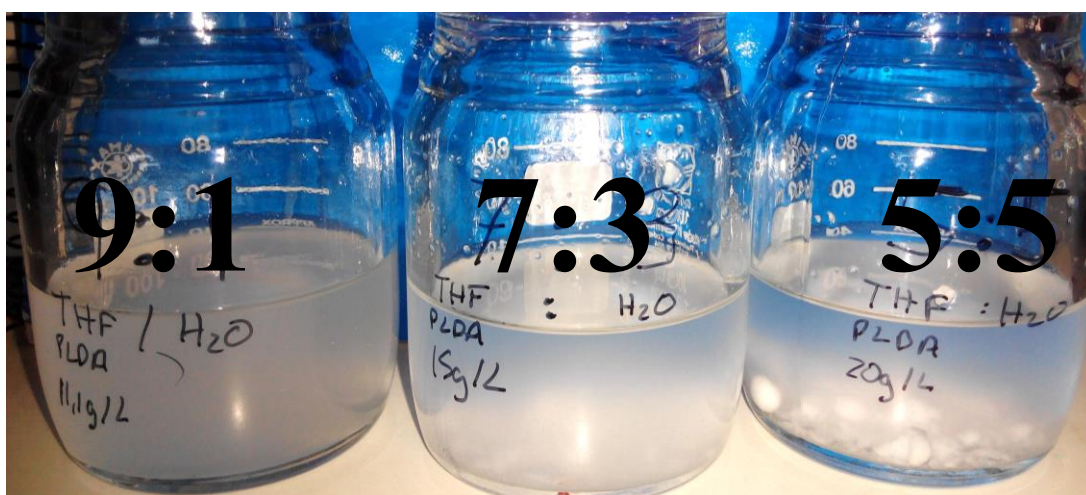


Figura 4.1.17. Imagen de la precipitación del PLA disuelto en THF al adicionar agua en relación 9:1, 7:3 y 5:5.

Considerando que la disolución de PLA en THF es completamente transparente, la Figura 4.1.17 muestra las disoluciones de PLA de 11, 15 y 20 g/L en un disolvente con relaciones de THF: H<sub>2</sub>O de 9:1, 7:3 y 5:5, respectivamente, de manera que la concentración final del PLA en las diferentes mezclas es siempre de 10 g/L, para valorar de forma visual la precipitación de PLA en estas mezclas. En el caso de 5:5 THF: H<sub>2</sub>O, el PLA precipita en forma de grandes aglomerados con morfología esférica. La mezcla binaria de 7:3 muestra también una suspensión de PLA floculada, donde el PLA ha precipitado parcialmente. Sin embargo, para la relación 9:1, el PLA, aun habiendo precipitado, se mantiene en suspensión, obteniéndose una suspensión translúcida y homogénea.

Como consecuencia de la toxicidad del THF, se optó por reducir la cantidad de disolvente en las disoluciones, por tanto se prepararon disoluciones muy concentradas de PLA de 80 g/L. Debido al uso de esta concentración y en vista de los resultados arriba mencionado, se decidió no sobrepasar la relación 9:1 de THF:H<sub>2</sub>O en cantidad de agua para no llegar a producir la floculación del PLA en el medio líquido antes de incorporar las partículas de Mg, y comprometer su mezclado con PLA.

### **4.1.3 Formulación de los materiales de partida**

Una vez se ha elaborado el estudio completo de las suspensiones de Mg y de las disoluciones de PLA, se prepararon las disoluciones mezcla de ambas, forzando la precipitación por secado del PLA sobre las partículas de Mg para obtener gránulos del compuesto. En este proceso se han establecido varias etapas que se resumen en el esquema que muestra la Figura 4.1.18.

Las etapas son las siguientes:

1. Preparación de suspensiones en medio acuoso a pH 12, con un contenido en sólidos de 35% en volumen y 0,2% en masa, sobre el contenido en sólidos, de PEI/CTAB y dispersadas mediante 45 min de molienda.
2. Separación por centrifugación y lavado con THF del polvo de Mg modificado superficialmente, sin llegar a sequedad.
3. Incorporación del polvo de Mg modificado en disoluciones de 80 g/L de PLA, según el ratio PLA/Mg formulado (Tabla 4.1.1).

4a. Incorporación de un volumen controlado de agua como antidisolvente, y por tanto como agente precipitante del PLA.

5a. Secado sin temperatura, bajo presión reducida, para la eliminación del disolvente.

6a. Conformado de los gránulos de PLA/Mg en cilindros densos mediante termopresión, y/o andamios por impresión 3D.

4b. Colada en cinta de las disoluciones mezcla y posterior secado a temperatura ambiente.

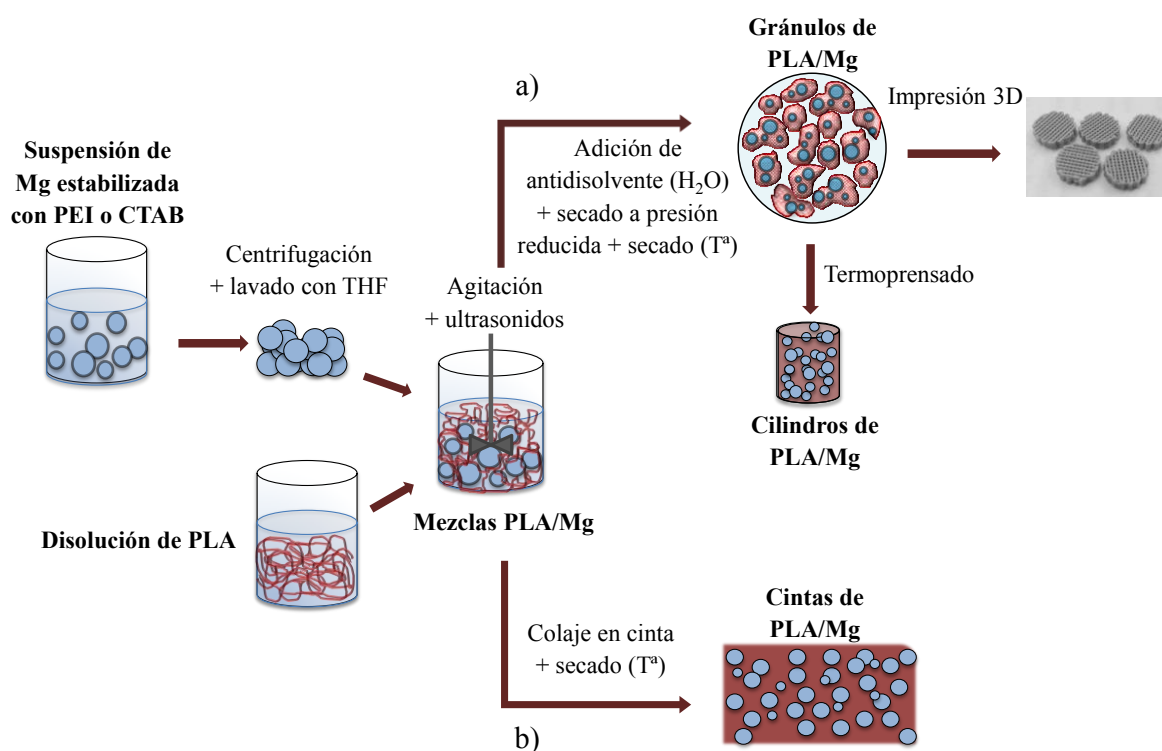


Figura 4.1.18. Esquema resumen de preparación de las mezclas de PLA/Mg y las diferentes rutas a seguir para obtener los materiales compuestos en forma de cintas o piezas tridimensionales.

De esta manera, una vez se ha preparado una suspensión dispersa, estable y homogénea de partículas de Mg, se separa la fase acuosa de la inorgánica mediante centrifugación y posterior lavado. Eliminar el agua de la suspensión para después añadir las partículas a la disolución de PLA/THF es determinante en varios aspectos (viscosidad, dispersión,

etc.), siendo el más obvio que el PLA se hidroliza en agua por lo que hay que reducir su tiempo de contacto al mínimo.

En el caso de la ruta b) es completamente imprescindible eliminarla, ya que el agua es un medio menos volátil a temperatura ambiente que el THF, por lo que la película homogénea y seca de PLA/Mg obtenida por colada en cinta tendría agua ocluida, lo que comprometería la interpretación de los ensayos de caracterización y degradación de estos materiales. En el caso de la ruta a), como ya hemos determinado anteriormente, la cantidad de antidisolvente que se añade a las disoluciones mezcla es un factor crucial para controlar la precipitación del PLA alrededor de las partículas de Mg, por tanto se debe eliminar el agua de las suspensiones de la primera etapa, para controlar en la segunda etapa la cantidad exacta de antidisolvente. Por tanto, para que la cantidad de agua que se adiciona no sea función de la cantidad de suspensión que añadimos al PLA, y se pueda controlar adecuadamente, se elimina en este paso de centrifugado y lavado con THF. Por último, el CTAB es un componente tóxico [20] y en numerosas ocasiones su toxicidad se asocia en la bibliografía a la disociación y a la carga de los dos contraiones  $\text{CTA}^+$  y bromuro ( $\text{Br}^-$ ) que posee el surfactante [21]. Ya que el  $\text{CTA}^+$  se encuentra anclado a la superficie de las partículas de Mg, se elimina el exceso de  $\text{Br}^-$  en el proceso de centrifugación, y sucesivos lavados, eliminando así la toxicidad asociada al uso de este aditivo.

El siguiente paso es el del mezclado de las partículas de Mg estabilizadas con la disolución de PLA en THF, que se deben dispersar de nuevo en un medio apolar completamente diferente al acuoso. El proceso de mezclado de la disolución de PLA y las partículas de Mg modificadas superficialmente se debe llevar a cabo mediante agitación mecánica durante 10 min, para evitar la formación de aglomerados, y finalmente aplicar ultrasonidos a las mezclas favoreciendo la interacción de los dispersantes (CTAB y PEI) con el nuevo medio, rompiendo los aglomerados suaves formados durante la centrifugación, o lo que es lo mismo, recuperando la estabilidad coloidal del Mg en el THF que redundará en la homogénea dispersión del Mg en la matriz de PLA.

Estas disoluciones mezcla, cuyas formulaciones son recogidas en la Tabla 4.1.1, son las precursoras de los materiales en forma de cintas de PLA/Mg, procesados mediante colada en cinta.

Tabla 4.1.1. Formulación de los materiales de partida procesados: disoluciones mezcla de PLA/Mg y gránulos.

Disoluciones mezcla	Magnesio	PLA	*PEI/CTAB
D-PLA	0	100	0
D-5MgP	5	95	0,2 (PEI)
D-5MgC	5	95	0,2 (CTAB)
D-10MgP	10	90	0,2 (PEI)
D-10MgC	10	90	0,2 (CTAB)
D-30MgP	30	70	0,2 (PEI)
D-30MgC	30	70	0,2 (CTAB)
D-50MgP	50	50	0,2 (PEI)
D-50MgC	50	50	0,2 (CTAB)
Gránulos	Magnesio	PLA	*PEI/CTAB
P-PLA	0	100	0
P-10MgP	10	90	0,2 (PEI)
P-30MgP	30	70	0,2 (PEI)

\* % en masa con respecto a la carga de Mg

En la Tabla 4.1.1 también se muestra la formulación de los gránulos de PLA/Mg que se han procesado, y que a su vez son los precursores de los cilindros termoprensados, como se muestra en la Figura 4.1.18. La granulación de la mezcla o suspensión de Mg en la disolución de PLA en THF se llevó a cabo por eliminación del disolvente a presión reducida, sin temperatura, para luego secar los gránulos en una estufa a 80 °C durante 48 h para eliminar el posible THF ocluido. Previamente al secado, se adicionó una cantidad controlada de agua a la suspensión de Mg en THF, como agente precipitante del PLA. El estudio de granulación queda definida en una patente, originada a raíz de esta tesis doctoral, titulada “Procedimiento de obtención de una pieza por modelado por deposición de hilo fundido” con fecha de registro 24/05/2018 (N° 201830503).

Tanto la utilización de THF como disolvente, que es totalmente miscible en agua, como el uso de una proporción menor de 9:1 THF:H<sub>2</sub>O, fueron factores determinantes de la precipitación homogénea del PLA alrededor de las partículas de Mg. Para poder verificar que esta precipitación se ha obtenido satisfactoriamente, se estudiaron los gránulos de PLA/Mg mediante MEB. La Figura 4.1.19 muestra varias micrografías de los gránulos de P-10MgP, así como el corte transversal de P-30MgP. Como se puede observar en la Figura 4.1.19a, las partículas de Mg están completamente recubiertas por

PLA. Más en detalle, en la Figura 4.1.19b, se aprecia que la precipitación del PLA alrededor de las partículas no es homogénea y revela un precipitado con una morfología en forma de placa bordeando la superficie.

Por otro lado, las imágenes de muestras pulidas (Figura 4.1.19c y d) revelan la formación de una interfaz polímero-metal continua, donde la potencial contracción por el entrecruzamiento de las cadenas de PLA durante el secado no se hace evidente ni provoca la separación de las fases. También se observa que el polvo P-30MgP está formado por gránulos de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$  con varias partículas de Mg embebidas. Estos gránulos pueden utilizarse como biomaterial para aplicaciones específicas, como reparación de defectos óseos, y también como material de partida para la fabricación de muestras sólidas a través de rutas termoplásticas convencionales, evitando así la degradación térmica del polímero durante la etapa previa de mezclado en caliente y permitiendo la incorporación de una mayor cantidad de Mg en el material compuesto.

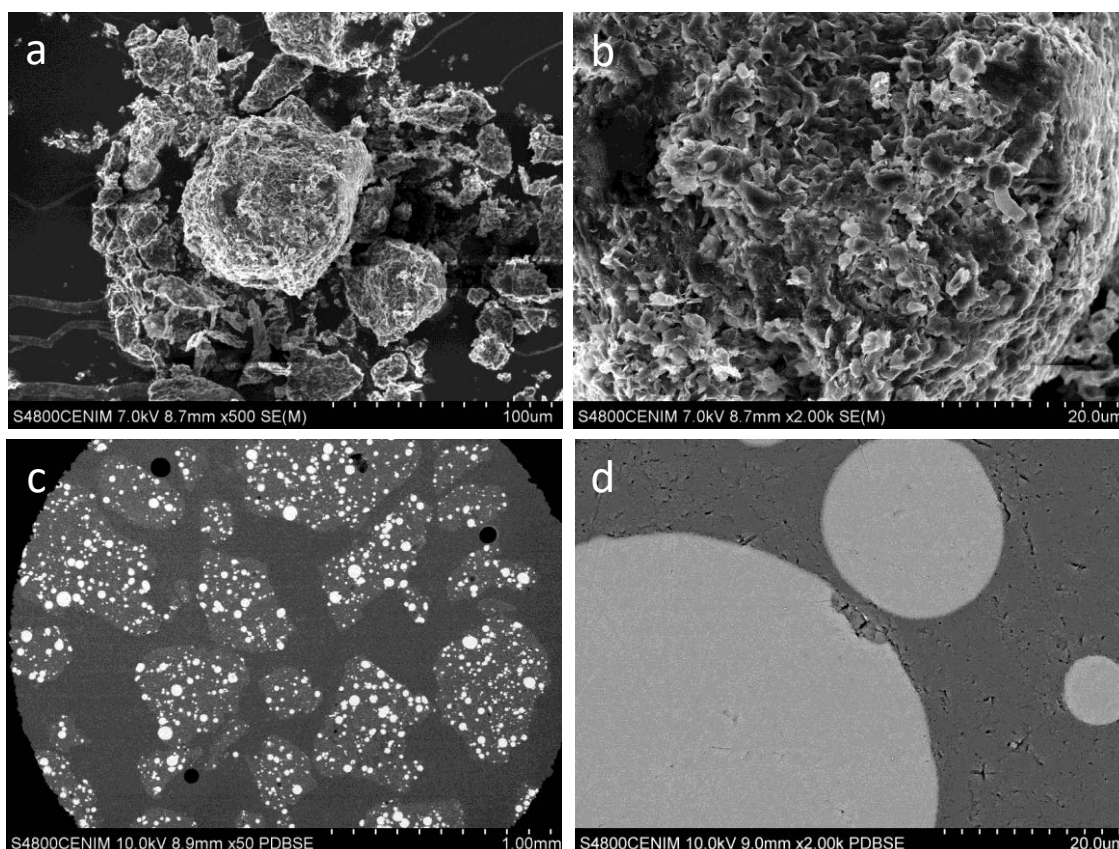


Figura 4.1.19. Micrografía MEB del polvo de la muestra P-10MgP (a y b) y corte transversal del polvo de P-30MgP (c y d ).

## Bibliografía

- [1] S. C. Cifuentes, M. Lieblich, F. A. López, R. Benavente, and J. L. González-Carrasco, "Effect of Mg content on the thermal stability and mechanical behaviour of PLLA/Mg composites processed by hot extrusion," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 72, pp. 18–25, 2017.
- [2] M. Dios, I. Kraveva, Z. Gonlalez, P. Alvarado, B. Ferrari, E. Gordo, and R. Bermejo, "Mechanical characterization of Ti(C,N)-based cermets fabricated through different colloidal processing routes," *J. Alloys Compd.*, vol. 732, pp. 806–817, 2018.
- [3] N. Hernández, R. Moreno, A. J. Sánchez-Herencia, and J. L. G. Fierro, "Surface behavior of nickel powders in aqueous suspensions," *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 10, pp. 4470–4474, 2005.
- [4] A. Atrens, G.-L. Song, M. Liu, Z. Shi, F. Cao, and M. S. Dargusch, "Review of recent developments in the field of magnesium corrosion," *Adv. Eng. Mater.*, vol. 17, no. 4, pp. 400–453, 2015.
- [5] G.-L. Song, "Corrosion electrochemistry of magnesium (Mg) and its alloys," in *Corrosion of Magnesium Alloys*, 2011, pp. 3–65.
- [6] M. Esmaily, J. E. Svensson, S. Fajardo, N. Birbilis, G. S. Frankel, S. Virtanen, R. Arrabal, S. Thomas, and L. G. Johansson, "Fundamentals and advances in magnesium alloy corrosion," *Prog. Mater. Sci.*, vol. 89, pp. 92–193, 2017.
- [7] S. Virtanen, "Biodegradable Mg and Mg alloys: Corrosion and biocompatibility," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 176, no. 20, pp. 1600–1608, 2011.
- [8] M. Liu, S. Zanna, H. Ardelean, I. Frateur, P. Schmutz, G. Song, A. Atrens, and P. Marcus, "A first quantitative XPS study of the surface films formed, by exposure to water, on Mg and on the Mg–Al intermetallics: Al<sub>3</sub>Mg<sub>2</sub> and Mg<sub>17</sub>Al<sub>12</sub>," *Corros. Sci.*, vol. 51, no. 5, pp. 1115–1127, 2009.
- [9] M. Santamaria, F. Di Quarto, S. Zanna, and P. Marcus, "Initial surface film on magnesium metal: A characterization by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and photocurrent spectroscopy (PCS)," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 3, pp. 1314–1324, 2007.
- [10] M. Taheri, R. C. Phillips, J. R. Kish, and G. A. Botton, "Analysis of the surface film formed on Mg by exposure to water using a FIB cross-section and STEM-EDS," *Corros. Sci.*, vol. 59, pp. 222–228, 2012.
- [11] K. A. Unocic, H. H. Elsentriecy, M. P. Brady, H. M. Meyer, G. L. Song, M. Faye, R. A. Meisner, and B. Davis, "Transmission electron microscopy study of aqueous film formation and evolution on magnesium alloys," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 161, no. 6, pp. C302–C311, 2014.
- [12] M. Taheri and J. R. Kish, "Nature of surface film formed on mg exposed to 1 M NaOH," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 160, no. 1, pp. C36–C41, 2013.
- [13] J. A. Lewis, "Colloidal Processing of Ceramics," *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 83, no.

- 10, pp. 2341–2359, Dec. 2004.
- [14] E. M. Kosacheva, D. B. Kudryavtsev, R F. Bakeeva, A I. Kuklin, A. K. Slamov, L. A. Kudryavtseva, V. F. Sopin, and A. I. Konovalov, “The aggregation of branched polyethylenimine and cationic surfactants in aqueous systems,” *Colloid J.*, vol. 68, no. 6, pp. 713–720, 2006.
  - [15] J. A. Lewis, “Colloidal Processing of Ceramics,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 83, no. 10, pp. 2341–2359, 2004.
  - [16] W. M. Sigmund, N. S. Bell, and L. Bergstrom, “Novel powder-processing methods for advanced ceramics,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 83, no. 7, pp. 1557–1574, 2000.
  - [17] E. Molero, B. Ferrari, and A. J. Sanchez Herencia, “Aditivos de procesamiento en el conformado de estructuras porosas: relevancia de la sinergia partícula-gel,” Universidad Carlos III, 2016.
  - [18] M. Dios, Z. Gonzalez, E. Gordo, and B. Ferrari, “Chemical precipitation of nickel nanoparticles on Ti(C,N) suspensions focused on cermet processing,” *Int. J. Refract. Met. Hard Mater.*, vol. 63, pp. 2–8, 2017.
  - [19] S. Sato, D. Gondo, T. Wada, S. Kanehashi, and K. Nagai, “Effects of various liquid organic solvents on solvent-induced crystallization of amorphous poly(lactic acid) film,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 129, no. 3, pp. 1607–1617, 2013.
  - [20] A. M. Alkilany, P. K. Nagaria, C. R. Hexel, T. J. Shaw, C. J. Murphy, and M. D. Wyatt, “Cellular uptake and cytotoxicity of gold nanorods: Molecular origin of cytotoxicity and surface effects,” *Small*, vol. 5, no. 6, pp. 701–708, 2009.
  - [21] D. Schachter, L. Fabris, K. Uhrich, L. Romsted, and S. Sofou, “The source of toxicity in CTAB and CTAB-stabilized gold nanorods,” Rutgers, The State University of New Jersey, 2013.



## 4.2 Compuestos PLA/Mg conformados por colada en cinta:

### Caracterización físico-química

Tal y como se ha descrito en el capítulo anterior, se han procesado materiales compuestos PLA/Mg en forma de cintas a partir de las suspensiones preparadas por mezclado coloidal. Este tipo de materiales compuestos, frente a otros materiales con matriz PLA reportados en la bibliografía (ver Introducción), tiene dos peculiaridades:

- Los materiales compuestos PLA/Mg en forma de cinta no han sufrido degradación térmica durante su procesamiento ya que la mezcla se realiza incorporando partículas de Mg modificadas en suspensión acuosa a una disolución de PLA, a temperatura ambiente.
- Al no haber degradación térmica de la matriz en el proceso de mezcla se ha podido incorporar hasta un 50% en masa de partículas de Mg, lo que equivale a prácticamente la misma cantidad de Mg que de PLA. Si consideramos la fracción volumétrica: hasta un 42% en volumen.

La caracterización del material compuesto se ha basado en el estudio de la dispersión de las partículas de Mg, el anclaje del sistema partícula-estabilizante a la matriz de PLA, y su implicación en la estructura/microestructura del material, sus características superficiales, la degradación/evolución térmica del compuesto, y su permeabilidad al paso de gases.

Además, en capítulos posteriores, se evaluarán sus propiedades mecánicas y actividad *in vitro*, particularmente la velocidad y mecanismo de degradación en sueros fisiológicos simulados y la respuesta celular de este tipo de materiales.

### 4.2.1 Caracterización estructural y térmica de las cintas PLA/Mg

Las cintas de material compuesto fueron procesadas desde las disoluciones mezcla de las suspensiones de Mg junto con las disoluciones de PLA, realizando la colada en cinta y un posterior secado. Las cintas, cuya composición se muestra en la Tabla 4.2.1, presentan un espesor menor de 50  $\mu\text{m}$ .

Tabla 4.2.1. Formulación de las cintas de PLA/Mg.

Cintas	Magnesio*	PLA*	PEI/CTAB**
C-PLA	0	100	0
C-5MgP	5	95	0,2 (PEI)
C-5MgC	5	95	0,2 (CTAB)
C-10MgP	10	90	0,2 (PEI)
C-10MgC	10	90	0,2 (CTAB)
C-30MgP	30	70	0,2 (PEI)
C-30MgC	30	70	0,2 (CTAB)
C-50MgP	50	50	0,2 (PEI)
C-50MgC	50	50	0,2 (CTAB)

\*% en masa

\*\* % en masa con respecto a la carga de Mg

Se han caracterizado los diferentes compuestos con Espectroscopía de Infrarrojo mediante Transformada de Fourier trabajando con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR) con la intención de determinar los cambios producidos en la estructura del polímero debidos a la adición de la carga de Mg, en términos de anclaje a la matriz, cambios en la cristalinidad y degradación térmica de la red polimérica. Las medidas se llevaron a cabo midiendo directamente en la superficie de los materiales.

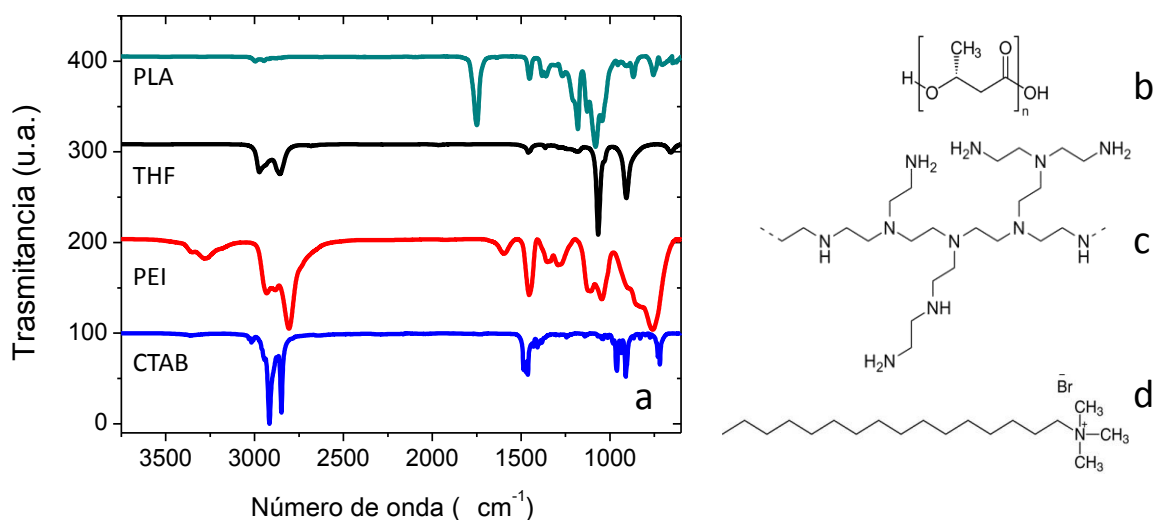


Figura 4.2.1. Espectros infrarrojos (a), junto con las estructuras del PLA de partida (b), el THF, y los dos dispersantes utilizados en el procesado: PEI (c) y CTAB (d).

En la Figura 4.2.1 se representan los espectros infrarrojos del PLA y los reactivos (THF, CTAB, PEI) de los materiales utilizados en el procesamiento. En esta figura se han incluido también las estructuras de las cadenas de los polímeros utilizados.

El espectro infrarrojo del PLA muestra sus bandas más características. La banda a  $1750\text{ cm}^{-1}$  es la banda característica de la vibración del estiramiento del enlace  $\text{C}=\text{O}$ , junto con la banda de vibración de este enlace a  $3508\text{ cm}^{-1}$  y las bandas de flexión a  $756$  y  $706\text{ cm}^{-1}$ . Las bandas a  $1454$  y  $2920\text{ cm}^{-1}$  son originadas por la flexión asimétrica del  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  respectivamente, las bandas a  $1383$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  por la flexión simétrica del  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  respectivamente y la banda a  $1362\text{ cm}^{-1}$  por el aleteo o tijereteo del grupo  $\text{CH}$ ; la banda a  $1045\text{ cm}^{-1}$  se asocia a la extensión del enlace  $\text{C}-\text{CH}_3$ ; las absorciones a  $2995\text{ cm}^{-1}$  y  $2946\text{ cm}^{-1}$  son asignadas al estiramiento principal y lateral del enlace  $\text{C}-\text{H}$  de la cadena del PLA. Las bandas a  $1180\text{ cm}^{-1}$  y  $1081\text{ cm}^{-1}$  son debidas a la vibración del grupo  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ; la banda a  $957\text{ cm}^{-1}$  se debe al estiramiento del enlace  $\text{C}-\text{CO}-\text{O}$  y la banda a  $868\text{ cm}^{-1}$  es la vibración del enlace  $\text{C}-\text{COO}$ . Los picos de flexión de los  $-\text{OH}$  terminales aparecen a  $1266\text{ cm}^{-1}$  y  $867\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

En el caso del polielectrolito, PEI, utilizado para preservar la estabilidad química del Mg así como para lograr un anclaje a la matriz del poliéster, las bandas asociadas se describen a continuación. Las bandas a  $3353$  y  $3277\text{ cm}^{-1}$  se asocian al estiramiento de los enlaces amina ( $\text{NH}$ ) y la banda a  $1596\text{ cm}^{-1}$  a su flexión; las bandas a  $2932$  y  $2807\text{ cm}^{-1}$  se asocian al estiramiento de los enlaces  $\text{C}-\text{H}$  y la banda a  $1455\text{ cm}^{-1}$  a su flexión.

En el caso del surfactante apolar, CTAB, utilizado para preservar la estabilidad coloidal del Mg en el PLA y mejorar la dispersión, la banda vibracional a  $2916\text{ cm}^{-1}$  se asocia al estiramiento asimétrico del  $\text{CH}_2$  y la banda a  $2848\text{ cm}^{-1}$  se debe al estiramiento simétrico. La banda a  $1487\text{ cm}^{-1}$  es la vibración asimétrica y simétrica de tijereteo del enlace  $\text{C}-\text{H}$  y del  $\text{CH}_3-\text{N}^+$ ; la banda a  $1462\text{ cm}^{-1}$  se debe al estiramiento del grupo  $\text{CH}_3^+$  y las bandas a  $960$  y  $719\text{ cm}^{-1}$  al estiramiento y el balanceo del grupo  $\text{C}-\text{N}^+$ .

En la Figura 4.2.2 se presentan los diferentes espectros de los materiales compuestos, así como el de la cinta de referencia C-PLA, obtenida también por disolución del PLA y conformado en cinta sin partículas de Mg. Todos los espectros presentan los picos representativos del PLA de partida, aunque algunos de ellos muestran ciertas diferencias que deben ser estudiadas.

En primer lugar, en relación a la reactividad de los estabilizantes/ligantes (CTAB/PEI) con el PLA de la matriz del material compuesto, Rodrigues *et al.* [1] atribuyen la ausencia de bandas adicionales de los dos componentes de un compuesto a una

modificación no covalente entre estos componentes. En nuestro caso, las bandas del PEI y el CTAB quedan completamente enmascaradas por las bandas de la matriz del PLA en las mezclas, lo cual podría justificarse de la misma manera.

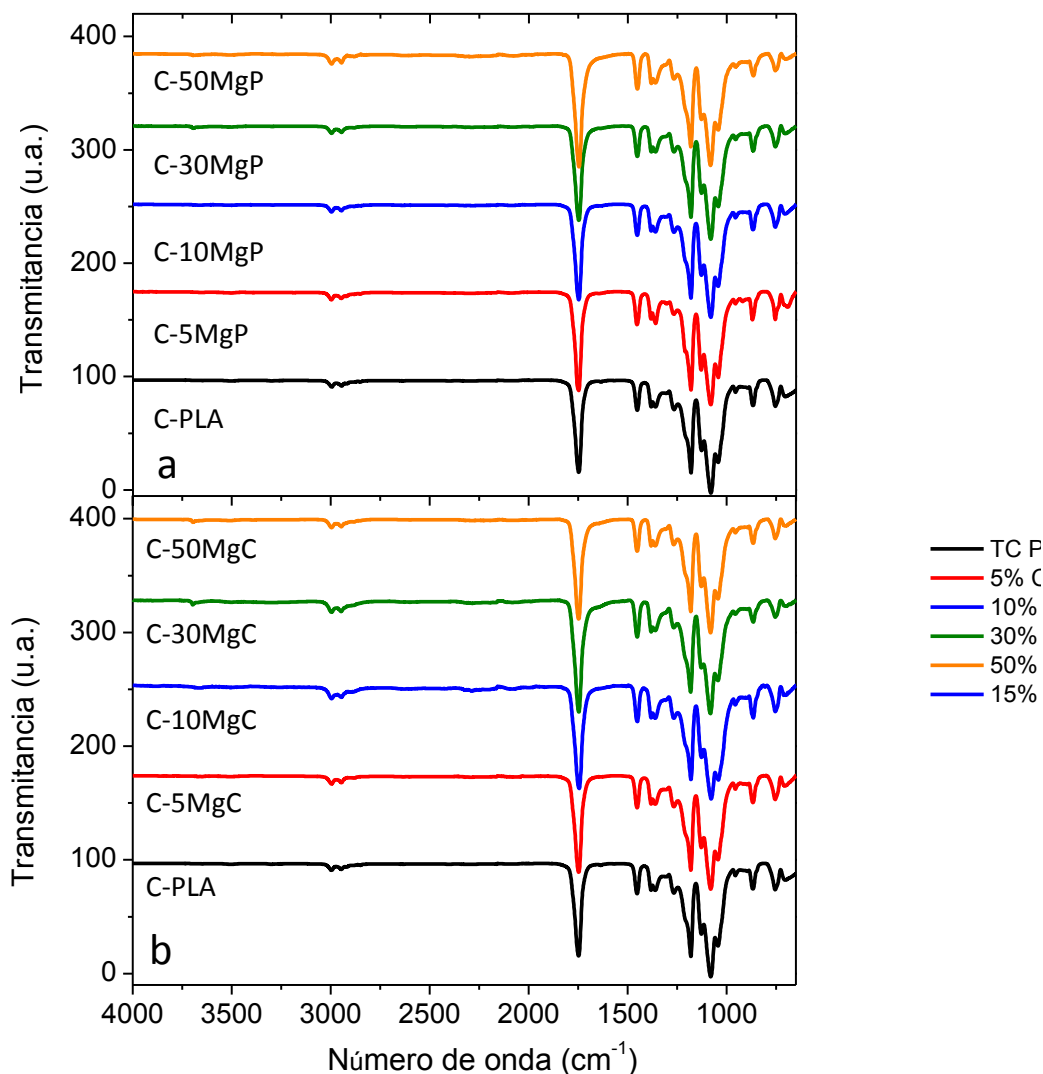


Figura 4.2.2. Espectros infrarrojos para todas las muestras procesadas C-XPLAP (a) y C-XPLAC (b) desde 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$

Puntualmente, tal y como muestran los espectros de los materiales compuestos ampliados a mayores longitudes de banda en la Figura 4.2.3, lo primero que se observa es que el pico del enlace Mg-OH está localizado a  $3696 \text{ cm}^{-1}$  únicamente a contenidos altos de Mg (C-30Mg y C-50Mg) para ambos dispersantes. La aparición de este pico puede deberse a la capa de óxido/hidróxido que tienen las partículas metálicas en superficie [2] y/o a la formación de un enlace quelato del Mg con los dispersantes PEI y CTAB [3].

Además, en la Figura 4.2.3, se observa un leve desplazamiento en el pico  $3509\text{ cm}^{-1}$  asociado a la vibración del enlace C=O del PLA hacia un menor número de onda, especialmente en el caso del uso de PEI (Figura 4.2.3a). Este desplazamiento de bandas se asocia en la bibliografía a interacciones entre grupos carboxilos, hidroxilos o aminas, ya sea por la formación de enlaces de hidrógeno o por interacciones iónicas y electrostáticas [4]–[6].

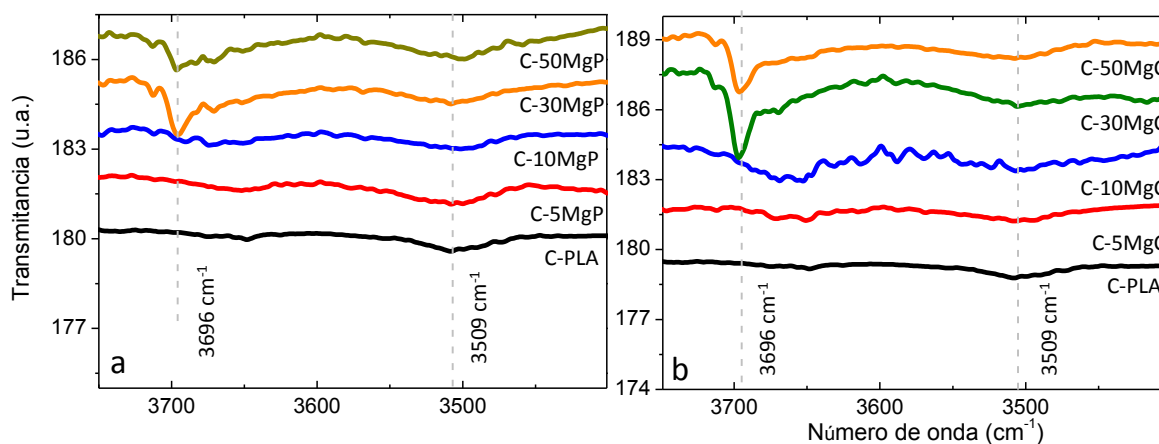


Figura 4.2.3. Picos de los espectros infrarrojos a  $3696\text{ cm}^{-1}$  y  $3509\text{ cm}^{-1}$  de las muestras procesadas con PEI (a) y con CTAB (b).

En las ampliaciones de los espectros en la Figura 4.2.4, la banda asociada a la extensión del grupo  $\text{CH}_2$ ,  $2850\text{ cm}^{-1}$ , disminuye en intensidad hasta desaparecer tanto en el caso del PEI como del CTAB, lo cual podría afianzar la idea de la interacción del grupo éster ( $\text{R-COOR}'$ ) del PLA con los diferentes grupos funcionales de los dispersantes ( $-\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $\text{N}^+\dots$ ). Además, en el PLA, la banda más característica del enlace carboxilo del éster a  $1748\text{ cm}^{-1}$  es muy susceptible a cambios ocasionados por degradación o interacción con otro componente, ya sea al disminuir su intensidad o al cambiar su longitud de onda [4]. En ese caso la disminución, aun siendo leve, se observa para ambos dispersantes hacia número de ondas menores.

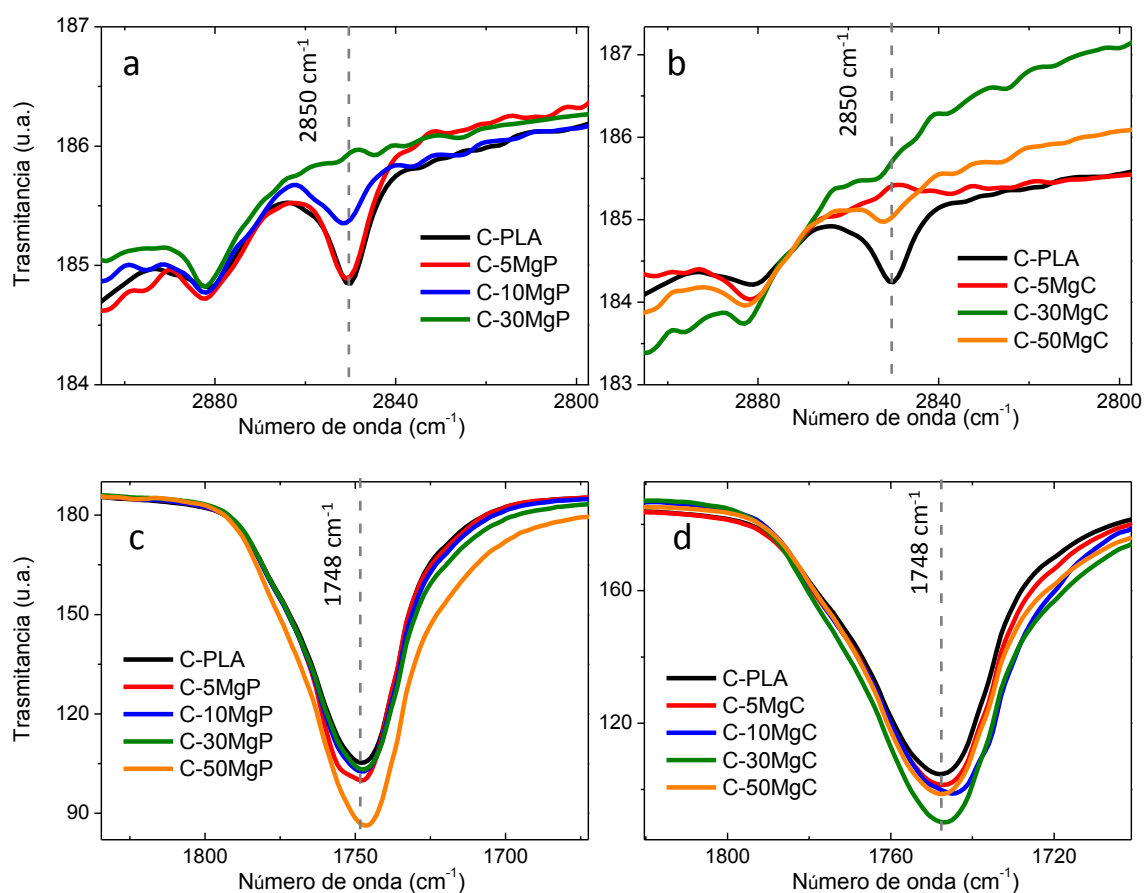


Figura 4.2.4. Picos de los espectros infrarrojos a 2850 y 1748  $\text{cm}^{-1}$  de las muestras procesadas con PEI (a y c) y con CTAB (b y d).

Igualmente, las bandas a 1266  $\text{cm}^{-1}$  y 867  $\text{cm}^{-1}$ , asociadas a los -OH o -CHO terminales del grupo éster, disminuyen su intensidad, y en el caso de 867  $\text{cm}^{-1}$  también se desplazan hacia números de onda menores conforme aumenta la cantidad de carga en la matriz para ambos dispersantes (Figura 4.2.5). La disminución de estas bandas en los espectros de los materiales compuestos demuestra la interacción entre los grupos hidroxilo (OH) del PLA con las aminas (NH) del PEI y con la cadena carbonada del CTAB [7].

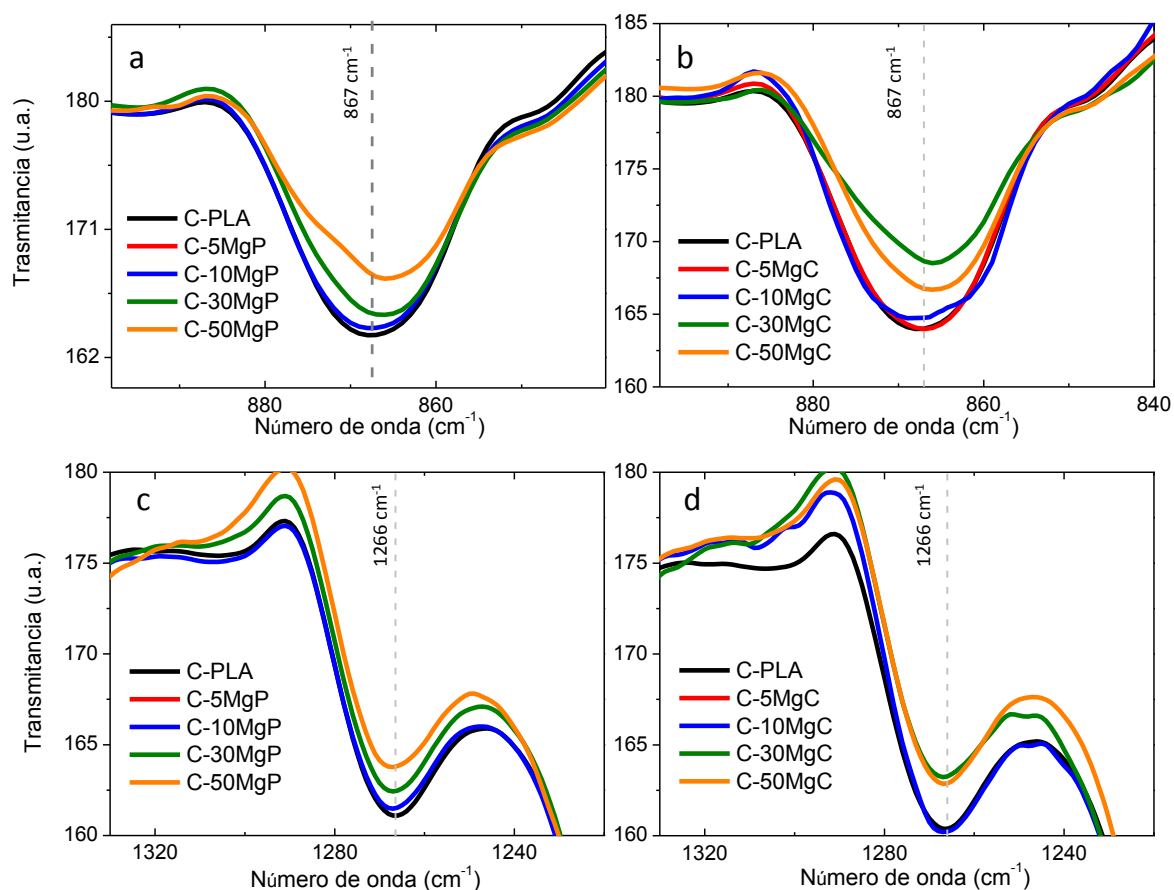


Figura 4.2.5. Bandas a  $867\text{cm}^{-1}$  para las muestras de PEI (a) y CTAB (b) y a  $1266\text{cm}^{-1}$  para las muestras de PEI (c) y CTAB (d) asociadas a los OH- terminales de las cadenas de PLA.

Por otra parte, en los espectros FTIR se pueden detectar diferentes bandas características de las diferentes fases cristalinas del PLA. La banda  $1748\text{cm}^{-1}$ , además de ser susceptible a degradación o interacciones de la matriz con otros componentes, también es susceptible a la cristalinidad del polímero. Rodrigues *et al.*[1] observan un desplazamiento de la banda hacia menores números de onda al cristalizar el material, y al no observar varias bandas, asocian el movimiento al polimorfismo. En nuestro caso, el desplazamiento de la banda se puede relacionar con el polimorfismo de la muestra y con una posible modificación, como se ha determinado. Algunos ejemplos que muestran polimorfismo serían las bandas a  $867\text{cm}^{-1}$  asociadas a la fase  $\alpha$  (Figura 4.2.5), pero también las bandas asociadas a la fase  $\alpha'$  a  $1382\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3$ ) y  $1222\text{cm}^{-1}$  (C-O-C), lo que da idea de las diferentes fases cristalinas del polímero [1], [8]–[10].

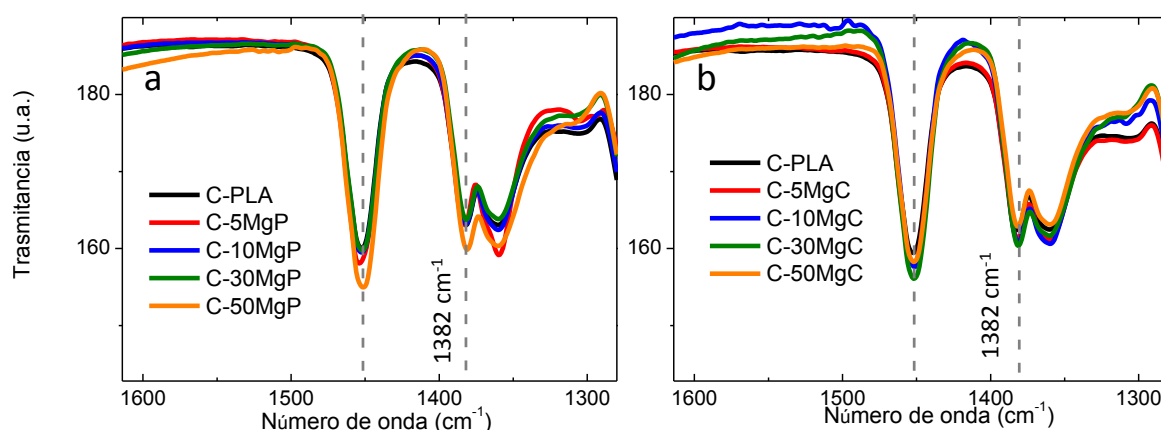


Figura 4.2.6. Banda a  $1382\text{ cm}^{-1}$  para las muestras de PEI (c) y CTAB (d) asociada a las fases  $\alpha'$  cristalina de las cadenas de PLA.

Las variaciones señaladas en los espectros, aun siendo sutiles, evidencian ciertas modificaciones en la matriz de PLA debido a la presencia de la carga inorgánica y los estabilizantes PEI y CTAB. Al respecto de la baja intensidad de las señales, Persson *et al.*[11] describen materiales compuestos en los que su fase inorgánica (hidroxiapatita) está en superficie, y justifican esta presencia de partículas en superficie debido a la alta intensidad de las señales correspondientes a esta fase, ya que el ATR penetra de media entre  $0,5$  y  $5\text{ }\mu\text{m}$ . En nuestro caso las partículas de Mg están embebidas y protegidas por una fina capa de polímero, como se observa en la Figura 4.2.7, lo que podría explicar que las diferencias entre espectros que observamos estén atenuadas.

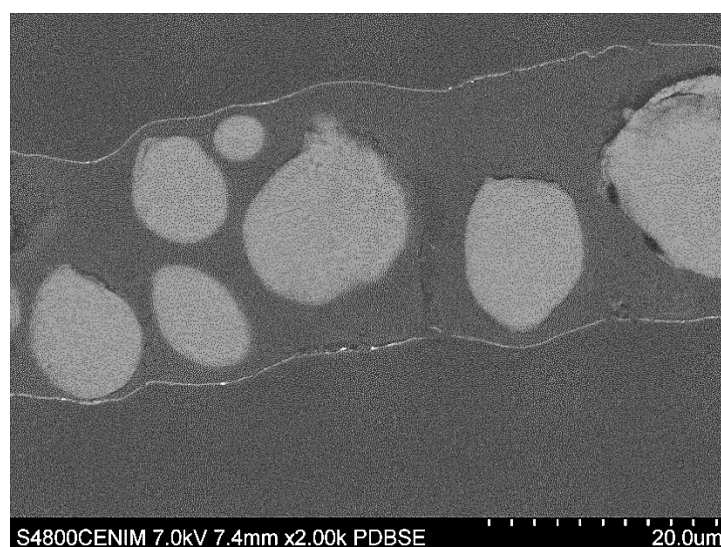


Figura 4.2.7. Compuesto C-50MgP donde observamos una capa de menos de  $5\text{ }\mu\text{m}$  de espesor alrededor de las partículas de Mg.



La caracterización estructural de los materiales compuestos se ha completado con su caracterización térmica. El efecto que produce la adición de Mg al comportamiento en fusión de la matriz polimérica, así como su propio procesamiento, ha sido analizado mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Se realizó un primer barrido (F10) para estudiar el comportamiento del polímero y su cristalinidad después del proceso de colado. Posteriormente se llevó a cabo un segundo barrido (CR10) para estudiar su cristalización durante el enfriamiento seguido de un segundo calentamiento (CR10F10) después de haber eliminado el historial térmico del material. Todos los materiales han sido estudiados comparando sus temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ), un proceso endotérmico asociado al movimiento de las cadenas poliméricas, sus temperaturas de cristalización en frío ( $T_{cc}$ ), un proceso exotérmico, sus temperaturas de fusión ( $T_m$ ), un proceso endotérmico, y sus grados de cristalinidad ( $\%X_c$ ).

En la Figura 4.2.8 se muestran los tres ciclos de calentamiento-enfriamiento-calentamiento en la misma gráfica. Se representan dos materiales, el PLA de partida en forma de gránulos y la muestra C-PLA, obtenida mediante la técnica de colado en cinta, por lo que se estudia el mismo material pero con distinto procesado.

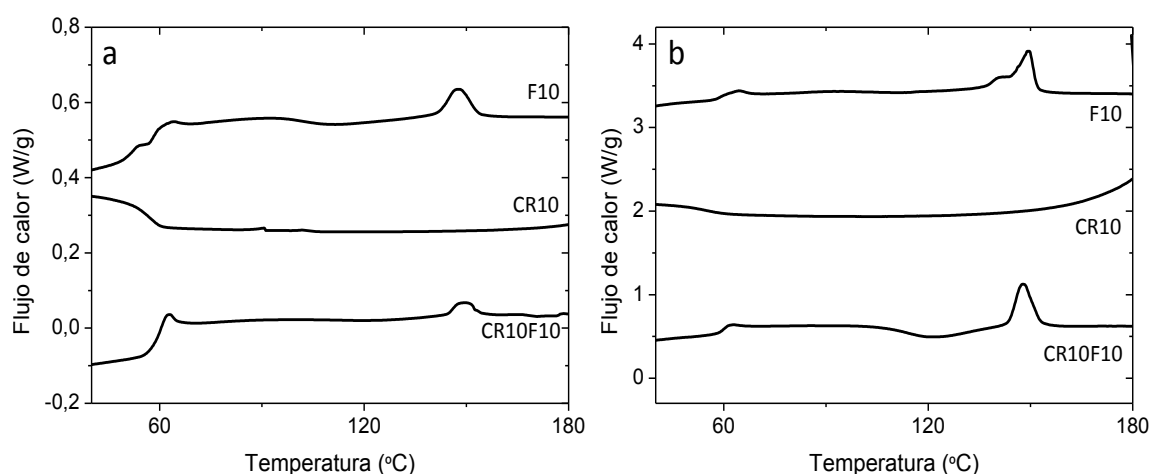


Figura 4.2.8. Calorimetría del PLA de partida (a) junto con la cinta C-PLA (b). Primer calentamiento (F10), primer enfriamiento (CR10) y segundo calentamiento (CR10F10)

Se evidencia que el proceso de colado en cinta produce una cristalización desde disolución del PLA al evaporarse el disolvente, ya que la muestra C-PLA procesada es cristalina mientras que el PLA de partida es amorfo (Tabla 4.2.2). En la Figura 4.2.9 podemos observar varias esferulitas en la muestra C-PLA. Este fenómeno ha sido previamente estudiado y normalmente los cristales de PLA crecen con estructura  $\alpha$ , la

más estable de sus formas cristalinas [8]. Al tener el PLA de partida una cristalinidad más baja, la  $T_g$  es menor, al ser la movilidad de las cadenas más accesible. Este mismo fenómeno se extrapola a la  $T_c$ , que también resulta menor. En el caso de C-PLA, en la  $T_g$  podemos observar un proceso de envejecimiento del material representado como un pico endotérmico pronunciado. El envejecimiento es una de las principales desventajas del uso del PLA y está asociado con una rigidización de las cadenas poliméricas de polímeros amorfos debido a su estado metaestable o de no-equilibrio que evoluciona hacia la estabilidad a temperaturas menores de  $T_g$  [12]. Este fenómeno modifica las propiedades del polímero y debe ser estudiado, por lo que todos los análisis llevados a cabo con las muestras fueron realizados pasados un mes de su procesamiento para asegurar que se llega a un máximo de envejecimiento y que los resultados obtenidos no dependen de este tipo de parámetro/circunstancia [13]. El colado en cinta, al ser un procesado desde disolución parece promover el envejecimiento del PLA.

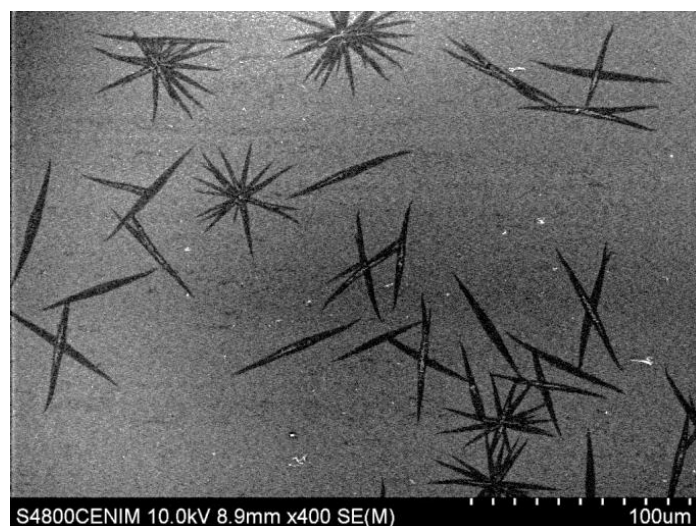


Figura 4.2.9. Imagen de microscopía electrónica de barrido mostrando esferulitas en las cintas C-PLA, indicativas de la cristalinidad del polímero

En el caso de la fusión, el pico del PLA es mucho menos pronunciado que el del C-PLA, lo cual indica que la estructura del PLA varía ligeramente tras el tratamiento de disolución/precipitación por evaporación, y el material de partida tiene una estructura algo más amorfa, y por ello una  $T_m$  ligeramente inferior. Además, en el C-PLA, la fusión ocurre a dos temperaturas, recogidas en la Tabla 4.2.2, lo cual sugiere la formación de cristales imperfectos durante la cristalización en frío, que funden a temperaturas ligeramente más bajas que los cristales formados desde la disolución [4].

En el ciclo de enfriamiento no se observa ningún proceso exotérmico asociado en la curva, por lo que se puede decir que este polímero no cristaliza desde el fundido. Ya que este fenómeno se observa para todos los materiales procesados, este ciclo no se analizará en lo sucesivo. En el segundo calentamiento, una vez se ha borrado la historia térmica de los materiales, los parámetros definidos en la Tabla 4.2.2 son los mismos para ambos materiales debido a que provienen del mismo polímero.

Tabla 4.2.2. Parámetros térmicos del DSC de las muestras PLA y C-PLA

	C-PLA					PLA				
	T <sub>g</sub>	T <sub>cc</sub>	T <sub>m1</sub>	T <sub>m2</sub>	%X <sub>c</sub>	T <sub>g</sub>	T <sub>cc</sub>	T <sub>m1</sub>	T <sub>m2</sub>	%X <sub>c</sub>
<b>F10</b>	60	113	141	150	36	56	110		147	3
<b>CR10F10</b>	59	122		148	3	60	122		148	3

Errores experimentales: T<sub>m</sub> y T<sub>cc</sub> ± 1 °C, T<sub>g</sub> ± 2 °C y %X<sub>c</sub> ± 4

En la Figura 4.2.10 se muestra el primer barrido de calentamiento de los compuestos, con objeto de estudiar cómo modifica a la matriz, la cantidad de carga inorgánica y los dos dispersantes utilizados, en un procesado por mezcla en disolución/suspensión. Por otro lado, en la Tabla 4.2.3 se muestran los parámetros térmicos, separados según carga y dispersante, observados en el primer calentamiento.

En el caso de PEI se observa un incremento en la cristalinidad de los compuestos por lo que se deduce que en este material, el Mg actúa de forma efectiva como agente nucleante para contenidos del 5 y 10%, con un 47 y 45% de cristalinidad respectivamente, con respecto al 36% de referencia del C-PLA [9], [14]. A partir de esa concentración la cristalinidad decrece, fenómeno asociado a un exceso de partículas o a cierto grado de aglomeración de las mismas [5] que se traduce en un elevado número de núcleos de cristalización, y favorece la inestabilidad de los cristales que pueden llegar a inhibir el completo crecimiento de esferulitas [10].

La diferencia más notable entre el uso del PEI y el CTAB en el procesamiento de las suspensiones, es que el polielectrolito produce una mayor cristalinidad en las muestras, aumentando hasta un 30% a contenidos bajos de Mg. Con CTAB, no se observa tal crecimiento de la cristalinidad, aunque la tendencia es muy parecida a la obtenida en las cintas con PEI. La cristalinidad es máxima con un 10% - 30% de Mg (C-10MgC, C-30MgC) para después decrecer. Una menor cristalinidad en las cintas preparadas con CTAB puede atribuirse al carácter anfifílico del surfactante, la cadena hidrófoba es la

que permanece expuesta en la superficie del sistema partícula-estabilizante y esta podría disminuir el efecto nucleante del Mg sobre las cadenas poliméricas hidrofílicas del PLA.

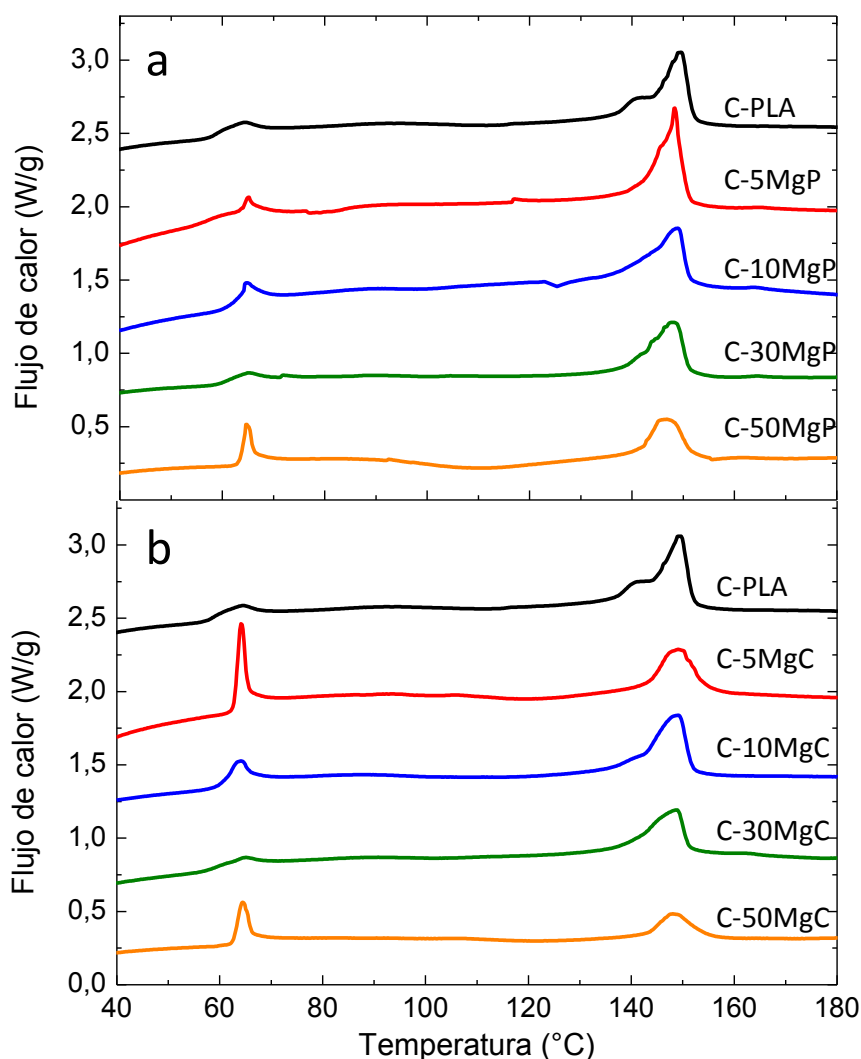


Figura 4.2.10. Primer calentamiento (F10) de los compuestos C-PLA, C-5Mg, C-10Mg, 30Mg y C-50Mg procesados mediante PEI (a) y CTAB (b).

En las cintas preparadas con PEI, se observan diferencias en la  $T_g$  aunque no una tendencia clara. Esto se debe a que se superponen dos fenómenos, el decrecimiento de la cristalinidad a partir de la dispersión del 10% en Mg, que favorece el movimiento de las cadenas [5], mientras que el aumento del contenido de Mg lo dificulta [4]. El mismo fenómeno se observa en el caso del CTAB. Por último, el envejecimiento aparece en todas las muestras, aunque es menos evidente en el caso del PEI, en donde únicamente es más apreciable en el compuesto más amorfo.

Como consecuencia de su alta cristalinidad, las muestras con PEI, C-5MgP, C-10MgP y C-30MgP, no presentan un pico detectable de cristalización en frío debido a que no tienen más capacidad de cristalizar. Sin embargo, las muestras de CTAB, menos cristalinas tras el proceso de mezclado y precipitación, presentan pequeños picos de cristalización en frío a diferentes temperaturas (no se aprecian en la figura debido a la escala). En la muestra C-30MgC, la  $T_{cc}$  es especialmente baja, lo cual puede atribuirse a que es la muestra más cristalina de esta composición, y lo que tiene lugar en frío es una cristalización de cristales más imperfectos.

Tabla 4.2.3. Parámetros térmicos del DSC de los compuestos. Primer calentamiento (F10)

F10	Mg /PLA	PEI					CTAB				
		$T_g$	$T_{cc}$	$T_{m1}$	$T_{m2}$	%X <sub>c</sub>	$T_g$	$T_{cc}$	$T_{m1}$	$T_{m2}$	%X <sub>c</sub>
	C-5Mg	59	-		150	47	63	119		149	20
	C-10Mg	62	-		149	45	60	115		149	28
	C-30Mg	61	-		148	31	61	103		149	30
	C-50Mg	62	110		147	6	62	121		148	13

Errores experimentales:  $T_m$  y  $T_{cc} \pm 1$  °C,  $T_g \pm 2$  °C y %X<sub>c</sub>  $\pm 4$

En cuanto a las temperaturas de fusión,  $T_m$ , la diferencia es mínima entre todas las composiciones estudiadas, por lo que no se asocia este fenómeno con la degradación de la matriz polimérica [15]. Luego puede concluirse que no se ha observado signos de degradación de la matriz polimérica al aumentar la carga inorgánica del compuesto, sea cual sea el estabilizante utilizado. Esto evidencia que la hipótesis de partida de este trabajo es razonable: el mezclado de partículas de Mg modificadas superficialmente con las disoluciones de PLA, y el posterior colado en cinta de las suspensiones, no promueve la degradación de la matriz polimérica. Las pequeñas variaciones observadas pueden asociarse al crecimiento de cristales imperfectos e inestables (fase  $\alpha'$ ) que funden a temperaturas ligeramente más bajas [16]. La ligera disminución de la  $T_m$  para altos contenidos de Mg estabilizado con PEI (C-30MgP y C-50MgP), puede deberse también al ya comentado aumento de núcleos de cristalización que produce el crecimiento de cristales imperfectos, y que hace disminuir la cristalinidad en consonancia con una menor temperatura de fusión.

Basándonos en el estudio realizado de los compuestos mediante DSC, se puede concluir que el PEI favorece la nucleación del PLA, en comparación con el CTAB, debido a su

mayor interacción con la matriz, tal y como se intuye en el análisis de los espectros de FTIR. La adición de una pequeña cantidad de Mg (hasta un 10%) produce cristales más perfectos (fase  $\alpha$ ) que funden a mayor temperatura, mientras que la incorporación de una mayor cantidad de Mg produce el efecto contrario, disminuyendo la estabilidad de la red y reduciendo ligeramente la temperatura de fusión.

En la Figura 4.2.11 se representa el tercer ciclo y el segundo calentamiento de los compuestos después de haber eliminado su historial térmico y en la Tabla 4.2.4 están volcados los datos obtenidos en la calorimetría.

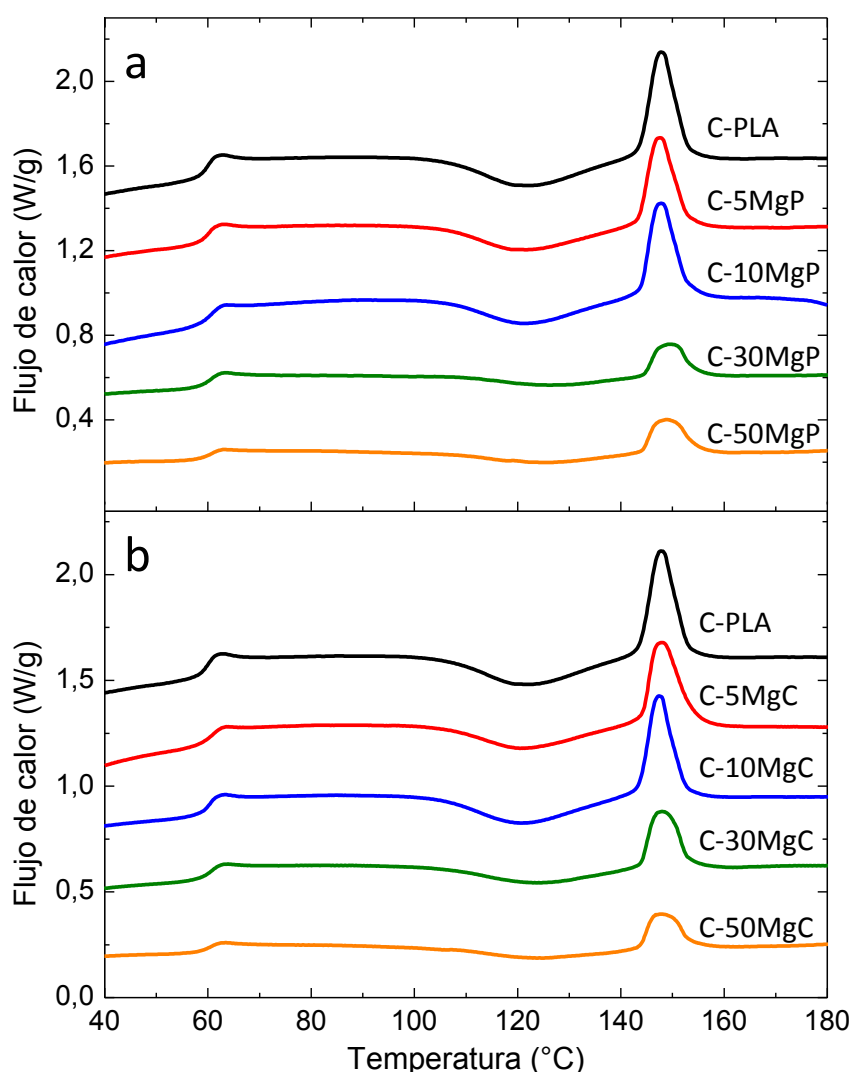


Figura 4.2.11. Segundo calentamiento (CR10F10) de los compuestos C-PLA, C-5Mg, C-10Mg, 30Mg y C-50Mg procesados mediante PEI (a) y CTAB (b).

Tabla 4.2.4. Parámetros térmicos del DSC de los compuestos. Segundo calentamiento (CR10F10)

CR10F10	Mg /PLA	PEI				Mg/PLA	CTAB			
		T <sub>g</sub>	T <sub>cc</sub>	T <sub>m1</sub>	%X <sub>c</sub>		T <sub>g</sub>	T <sub>cc</sub>	T <sub>m1</sub>	%X <sub>c</sub>
	<b>C-5MgP</b>	59	122	148	2	<b>C-5MgC</b>	61	122	148	7
	<b>C-10MgP</b>	59	122	148	2	<b>C-10MgC</b>	60	121	148	2
	<b>C-30MgP</b>	59	128	150	0	<b>C-30MgC</b>	61	124	148	0
	<b>C-50MgP</b>	59	126	149	0	<b>C-50MgC</b>	61	124	148	0

Errores experimentales: T<sub>m</sub> y T<sub>cc</sub> ± 1 °C, T<sub>g</sub> ± 2 °C y %X<sub>c</sub> ± 4

En este caso las curvas son más homogéneas entre ellas y presentan un comportamiento similar con una tendencia más evidente. Se puede observar cómo las cristalinidades de las muestras son mucho menores e incluso despreciables debido a que los compuestos no son capaces de cristalizar en condiciones dinámicas durante el enfriamiento, como ya se comprobó en la Figura 4.2.8.

En el caso del PEI, las T<sub>g</sub> no varían para los compuestos con diferentes contenidos en Mg, por lo que podemos concluir que, una vez se ha eliminado las variaciones debidas al procesamiento, el Mg no obstaculiza el movimiento de las cadenas poliméricas al estar integrado químicamente con ellas. En el caso del CTAB, la T<sub>g</sub> aumenta levemente en todas las muestras, por lo que se puede intuir un efecto producido por el surfactante que inhibe el movimiento de las cadenas. Esto indica que hay cierta interacción física entre la partícula-surfactante y la matriz.

A mayor carga se produce un aumento de la T<sub>cc</sub> y T<sub>m</sub> lo que indica que los cristales son más perfectos y funden a más alta temperatura. Este fenómeno de nuevo puede asociarse al efecto nucleante de las partículas, que en este caso no llegan nunca a inhibir el crecimiento de los cristales, cuando cristalizan en la T<sub>cc</sub>, a diferencia de cuando lo hacen desde disolución. También observamos que en este caso se produce un aumento de la T<sub>m</sub> con la carga, al contrario que en el primer calentamiento, lo que de nuevo apoya que no se ha producido ninguna degradación en la matriz desde el procesado.

Del estudio de este segundo calentamiento podemos concluir que influye más la adición de Mg y el uso de dos dispersantes en la cristalización desde la mezcla en disolución/suspensión que en la cristalización a la T<sub>cc</sub> bajo condiciones dinámicas. Esto produce comportamientos térmicos muy similares para todos los materiales, sin ser dependientes de los factores, de los que sí lo eran en el primer calentamiento.

La degradación térmica de las cintas se ha determinado mediante análisis termogravimétrico (TGA) en un rango de 20 a 500 °C. A partir de estos análisis también se ha verificado la cantidad de Mg final que contienen las diferentes cintas y composiciones.

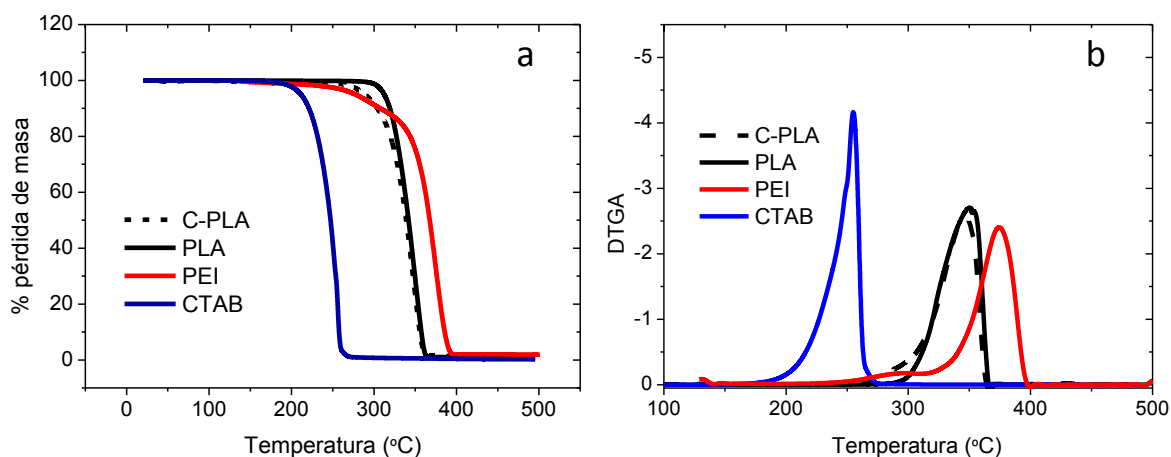


Figura 4.2.12. Termogramas de los precursores o compuestos de partida. C-PLA, PLA, PEI, CTAB

Los termogramas del PLA, C-PLA y del PEI y CTAB se muestran en la Figura 4.2.12a, donde se observa el comportamiento a degradación térmica de cada componente polimérico del compuesto final. La Figura 4.2.12b muestra la derivada de las curvas termogravimétricas. En Tabla 4.2.5 están recogidos los parámetros que determinan la degradación de todos los materiales utilizados, en términos de: temperatura a la cual se inicia la degradación ( $T_0$ ), temperatura de la principal pérdida de masa o temperatura de máxima degradación ( $T_p$ ), temperatura a la que termina la degradación ( $T_e$ ) y pérdida de masa en el primer pico de degradación ( $\Delta w_1$ ). Por último, también se recogen los porcentajes de residuo ( $\% R$ ) de los materiales de partida (PLA, C-PLA, PEI y CTAB) y los  $\%_{Mg}$  para los compuestos.

En la Figura 4.2.12 se aprecia una clara similitud en el comportamiento general a degradación de los cuatro materiales, que solo presentan una pérdida de masa principal. Sin embargo, existe una diferencia significativa entre el polímero de partida (PLA) y el PLA procesado en forma de cinta (C-PLA): una variación de la temperatura de degradación máxima ( $T_p$ ) de 5°C, como observamos en la Tabla 4.2.5. Esto puede asociarse directamente a un mayor contenido de cadenas cortas de polímero producido por el proceso de disolución-precipitación. En cuanto a los dos estabilizantes, el PEI es un polímero muy ramificado que tiene varios enlaces amina estables por lo que su



temperatura de degradación ( $T_p$ ) es la más alta de todos los compuestos. Por otro lado, el CTAB es un surfactante de cadena larga cuya temperatura de degradación es más baja que la de los compuestos poliméricos. En la derivada (Figura 4.2.12b) también observamos diferencias entre el comportamiento del PEI y del PLA con respecto al CTAB, que es una molécula orgánica de alto peso molecular, pero no es un polímero, por lo que la pendiente de degradación es mayor, observándose un pico más pronunciado en su derivada. Por el contrario, tanto PEI como PLA tienen una degradación más escalonada y presentan un pico menos pronunciado.

Tabla 4.2.5. Parámetro de degradación de los compuestos PLA, C-PLA, C-PLA5MgP, C-PLA5MgC, C-PLA10MgP, C-PLA10MgC, C-PLA30MgP, C-PLA30MgC, C-PLA50MgP, C-PLA50MgC.

	$T_0$	$T_p$	$T_e$	$\Delta w$	% <sub>R</sub>		$T_0$	$T_p$	$T_e$	$\Delta w$	% <sub>R</sub>
<b>PLA</b>	298	351	361	98	0,6	<b>C-PLA</b>	265	346	359	97	0,6
<b>PEI</b>	219	374	394	98	1,9	<b>CTAB</b>	197	254	264	99	0,2
<b>PLA/Mg</b>	<b>PEI</b>					<b>PLA/Mg</b>	<b>CTAB</b>				
	$T_0$	$T_p$	$T_e$	$\Delta w$	% <sub>Mg</sub>		$T_0$	$T_p$	$T_e$	$\Delta w$	% <sub>Mg</sub>
<b>C-5MgP</b>	279	289	293	90	4,9	<b>C-5MgC</b>	278	289	291	89	5,8
<b>C-10MgP</b>	264	276	282	85	10,0	<b>C-10MgC</b>	263	275	280	85	9,0
<b>C-30MgP</b>	245	261	267	64	27,5	<b>C-30MgC</b>	245	261	267	65	26,8
<b>C-50MgP</b>	234	246	254	43	45,1	<b>C-50MgC</b>	238	253	261	47	46,8

En la Figura 4.2.13 se muestran los termogramas de todos los compuestos procesados (Figura 4.2.13a y b), así como las derivadas de las curvas termogravimétricas donde se observa el pico principal de pérdida de masa en todos los materiales (Figura 4.2.13c). Si bien el rango de análisis ha sido de 20 a 500°C, en la Figura 4.2.13b se muestra un aumento de la zona de degradación principal.

Como se observa en la Figura 4.2.13a, todos los materiales compuestos presentan un pico pronunciado de degradación térmica cuyas temperaturas (entre 246 y 289 °C) disminuyen en función de la cantidad de Mg que tiene el material y el estabilizante utilizado. Los resultados muestran que el Mg anticipa y acelera la degradación térmica del PLA. Por otro lado, la tendencia menos acusada en el inicio de la degradación observada en la cinta C-PLA (Figura 4.2.12 a), se observa de nuevo en estos materiales (Figura 4.2.13b). Esto puede asociarse a un aumento del contenido de cadenas cortas de polímero que se rompen a temperaturas más bajas.

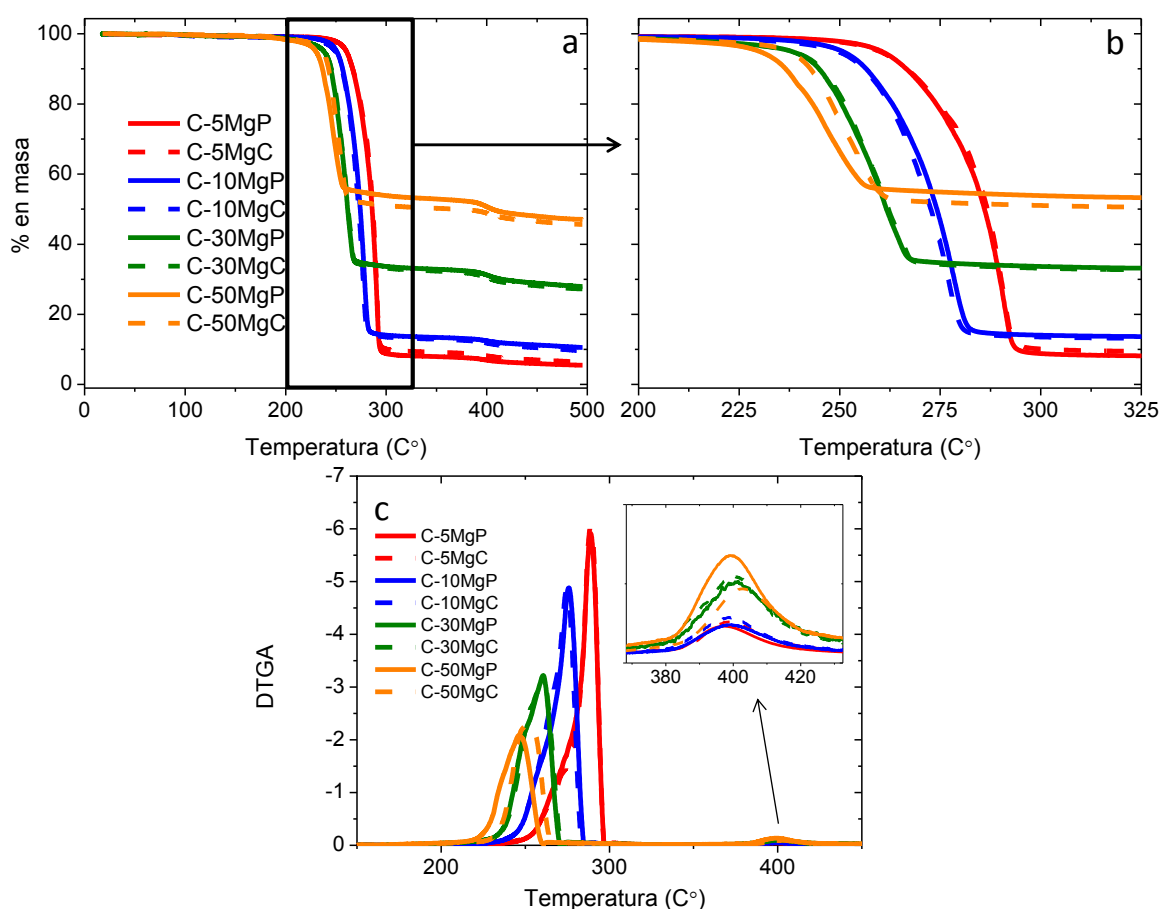


Figura 4.2.13. Termogramas de PLA, C-PLA, C-PLA5MgP, C-PLA5MgC, C-PLA10MgP, C-PLA10MgC, C-PLA30MgP, C-PLA30MgC, C-PLA50MgP, C-PLA50MgC de 0 a 500°C (a) y en la zona de pérdida de masa de 200 a 325°C. (b) Derivada de los termogramas de todos los compuestos (c).

Además de una disminución en la temperatura de degradación, la carga también origina intervalos de degradación mayores desde 13 °C en el compuesto C-5MgC hasta 23 °C en el C-50MgC. En la Figura 4.2.13c se evidencia que el pico de la derivada del TGA se ha desplazado hacia menores temperaturas conforme mayor es el contenido en carga, de la misma manera que lo hace el pico de degradación térmica. Por otra parte, la magnitud de la derivada, o sea, la pendiente de la TGA (Figura 4.2.13a), disminuye conforme aumenta el contenido en Mg, al igual que aumenta el rango en el que se produce la degradación. Esto indica que las partículas de Mg no solo aceleran la degradación, sino que la degradación que producen no es homogénea, lo que indicaría que ha habido una rotura de las cadenas poliméricas, generando oligómeros de distinto peso molecular que funden en un mayor rango de temperaturas.

Los resultados del DSC muestran que la matriz polimérica no se degrada durante el proceso de mezclado en disolución/suspensión y el posterior conformado por colado en cinta, por lo que la temprana degradación del compuesto a medida que aumenta el contenido en Mg se debe a la interacción de la matriz y la carga inorgánica durante el ciclo térmico. De hecho, se ha reportado cómo el MgO actúa como catalizador de la reacción de depolimerización del PLA al someter al polímero a temperaturas elevadas [17]. Montoyama *et al.* [17] describen la degradación térmica del PLLA junto con partículas de MgO de diferente tamaño, y demuestran que la degradación del polímero aumenta con la disminución de tamaño de las partículas de MgO, al aumentar el área superficial catalítica. Además, observan que si las partículas de MgO están ligeramente hidratadas ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) aumenta la presencia de centros de reacción, acelerando la degradación. La temperatura de máxima descomposición de los materiales compuestos PLA/MgO disminuye aproximadamente 100 °C con una carga de 5% en masa [17].

En las cintas procesadas a partir de la mezcla de suspensiones coloidales de Mg y la disolución de PLA en THF, tal y como se describió en el capítulo anterior, todas las partículas están recubiertas por una doble capa de  $\text{MgO}/\text{Mg}(\text{OH})_2$  [2], que podría actuar como frentes catalíticos de depolimerización del PLA, y por ello influir de forma significativa en la degradación térmica del material compuesto. Además, la dispersión homogénea del Mg en la matriz polimérica provoca la temprana degradación de los materiales compuestos PLA/Mg, por ejemplo en las muestras C-5Mg se observa una disminución de 60°C en la temperatura máxima de degradación con respecto al polímero de partida. Sin embargo, la disminución de la temperatura de degradación no ocurre de una manera proporcional a la cantidad de Mg dispersa en el polímero, sino que decrece 60°C desde el C-PLA hasta el C-5Mg, y luego para todas las restantes composiciones decrece un valor fijo de aproximadamente 15°C. Es decir, tal y como muestra la Figura 4.2.14 la degradación va disminuyendo de forma exponencial decreciente a medida que aumenta la cantidad de Mg en el material compuesto. Este fenómeno puede deberse a que el proceso catalítico de descomposición no requiere de mucha cantidad de  $\text{MgO}/\text{Mg}(\text{OH})_2$  para producirse, concretamente una cantidad alrededor del 5% [17].

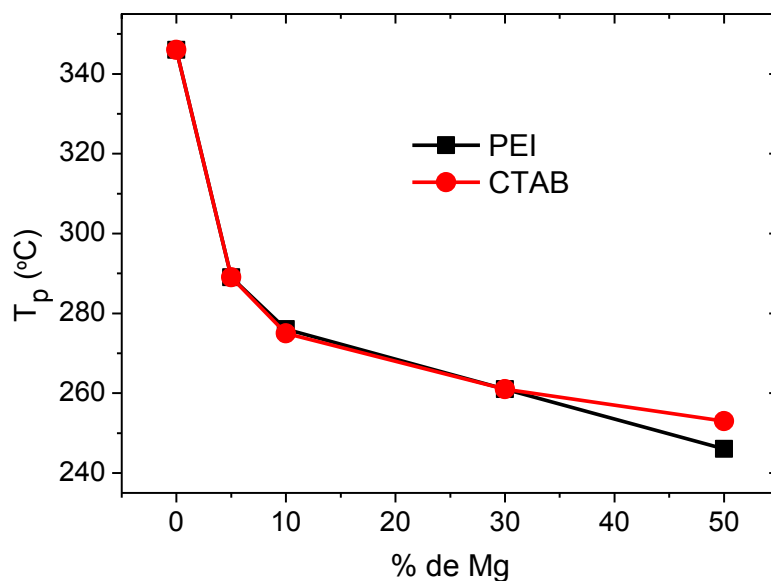


Figura 4.2.14. Variación de la temperatura de degradación ( $T_p$ ) frente a la cantidad de Mg.

Además, comparando las termogravimetrías de los materiales compuestos preparados con PEI y CTAB, no encontramos variaciones significativas. Por tanto, la degradación no dependería de este factor, únicamente existen diferencias significativas en las muestras C-50MgP y C-50MgC, que podrían ser debidas a que hay un mayor defecto en masa de Mg en la muestra procesada con PEI (ver %<sub>Mg</sub> en la Tabla 4.2.5).

Las pérdidas de masa en el pico principal, asociadas a la degradación del PLA, oscilan desde el 43% al 90% en función del contenido de polímero de cada compuesto. Podemos observar que las pérdidas asociadas a cada composición son menores a las esperadas debido a que todas las muestras presentan una segunda degradación a aproximadamente 400°C, siendo esta segunda degradación más evidente cuanto mayor es la cantidad de Mg en el compuesto (Figura 4.2.13c). Esta descomposición se asocia con la deshidratación del  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  de la capa de degradación que, como ya hemos estudiado, poseen todas las partículas de Mg en la matriz polimérica, y por tanto a la formación del MgO cristalino [18].

La Figura 4.2.15 compara la cantidad de Mg (Mg/MgO) residual (a 500°C) de los compuestos calculado mediante TGA y la cantidad de Mg nominal. El método de procesamiento utilizado es lo suficientemente preciso como para que ambos valores sean muy cercanos, especialmente a bajas concentraciones. Los materiales empiezan a presentar un defecto de carga a partir de un 30%Mg, derivado de la manipulación de las suspensiones. (Véase método experimental)

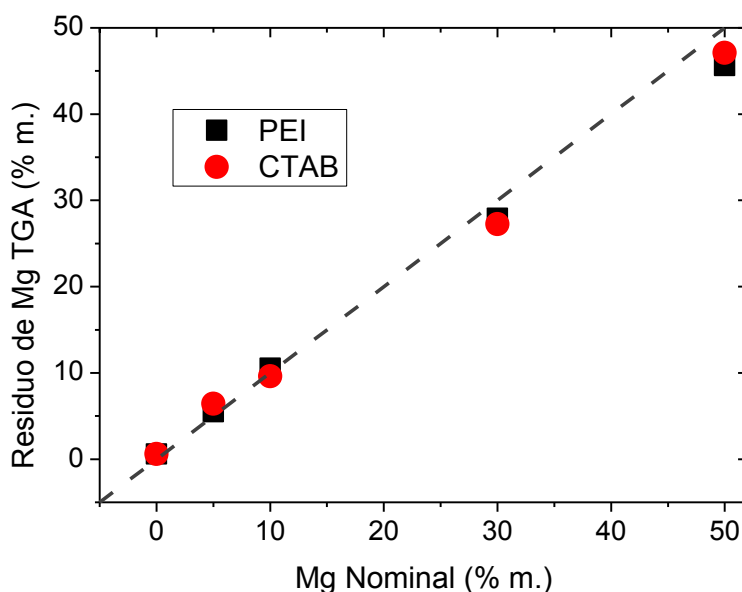


Figura 4.2.15. Comparación la cantidad de Mg nominal de las muestras con la cantidad de Mg determinada mediante TGA.

## 4.2.2 Caracterización microestructural y superficial de las cintas PLA/Mg

Tras la caracterización estructural y térmica, la microestructura y superficie de los materiales compuestos en forma de cinta se han caracterizado mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía óptica, determinando además su rugosidad y espesor, así como su densidad en términos de permeabilidad al paso de gases.

Como se explicó en la parte experimental, las cintas del material compuesto PLA/Mg se cueban sobre un vidrio, por ello presentan dos caras con terminaciones diferentes: una superficie lisa, la que queda sobre vidrio, y una superficie rugosa, la cara que queda expuesta durante el colado de la suspensión y la evaporación del disolvente durante el secado de la cinta. En primer lugar, se realizaron fotografías generales de la cara rugosa sobre una superficie blanca de referencia. Estas imágenes se muestran en la Figura 4.2.16, donde puede observarse la disposición y la distribución de las partículas en la matriz.

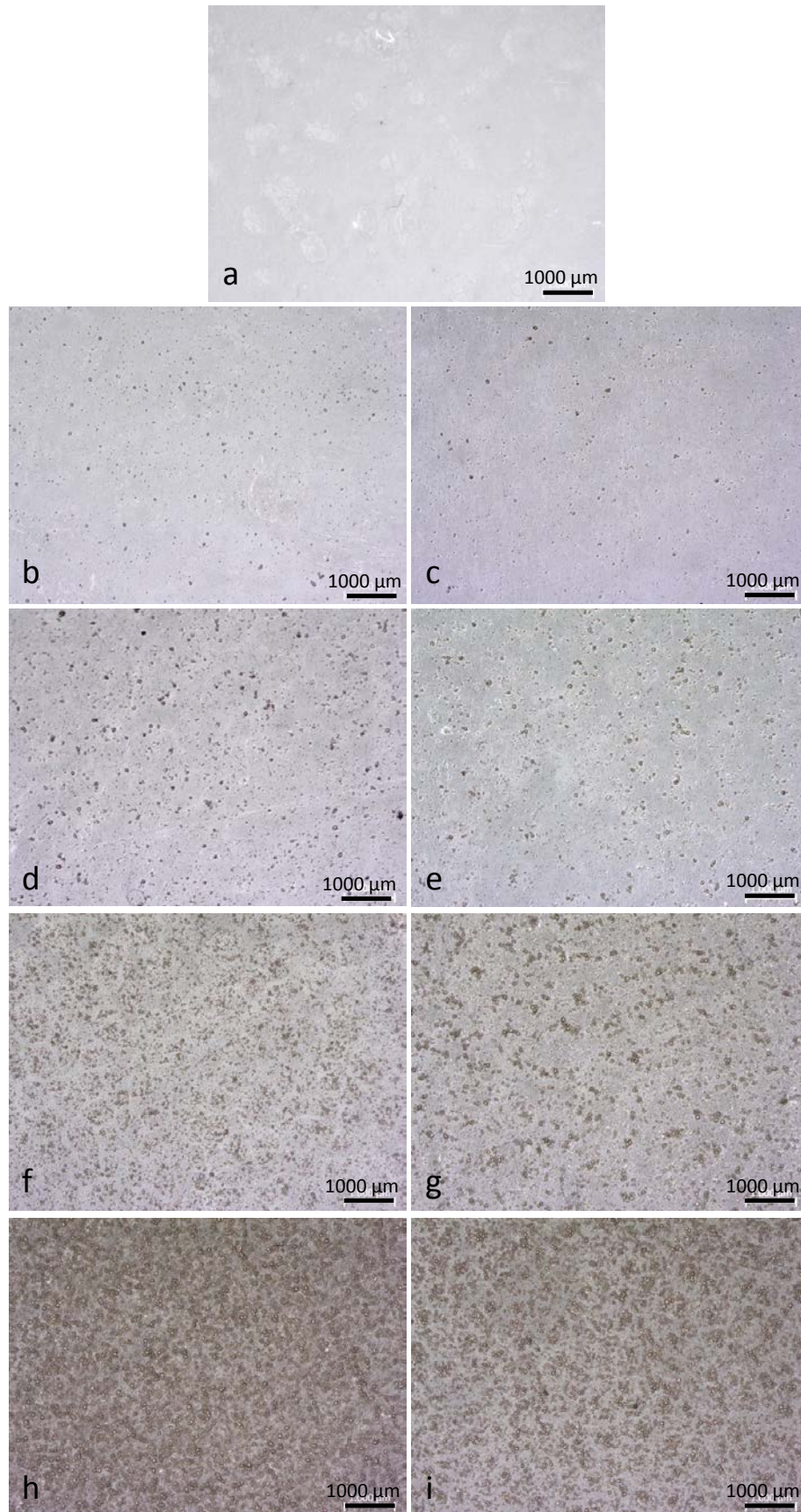


Figura 4.2.16. Micrografías de las superficies de C-PLA (a) C-5MgP (b) C-5MgC (c) C-10MgP (d) C-10MgC (e) C-30MgP (f) C-30MgC (g) C-50MgP (h) C-50MgC (i).



De la observación de las fotografías se aprecia un cambio de color y un aumento de la opacidad de los materiales, conforme aumenta el contenido en carga del Mg, ya que el PLA de partida es transparente. En los contenidos más bajos de Mg (C-5Mg y C-10Mg) se observa una buena dispersión de las partículas en la matriz y no se aprecia un cambio significativo entre los materiales en los que el Mg está dispersado con PEI o CTAB. Sin embargo, a medida que aumenta la carga (C-30Mg y C-50Mg), empiezan a aparecer aglomerados de partículas. En este caso, que se muestra a mayores magnitudes en la Figura 4.2.17, sí se aprecia una diferencia significativa entre las muestras en las que se ha utilizado PEI y CTAB para dispersar y estabilizar el Mg en la disolución de PLA. En el caso del uso del CTAB se observa mayor cantidad de aglomerados, y además estos son de mayor tamaño, hasta el punto en que las cintas C-30MgP/C30MgC (Figura 4.2.16f y g, y Figura 4.2.17a y c) y C-50MgP/C-50MgC (Figura 4.2.16h e i, y Figura 4.2.17b y d) muestran texturas diferentes.

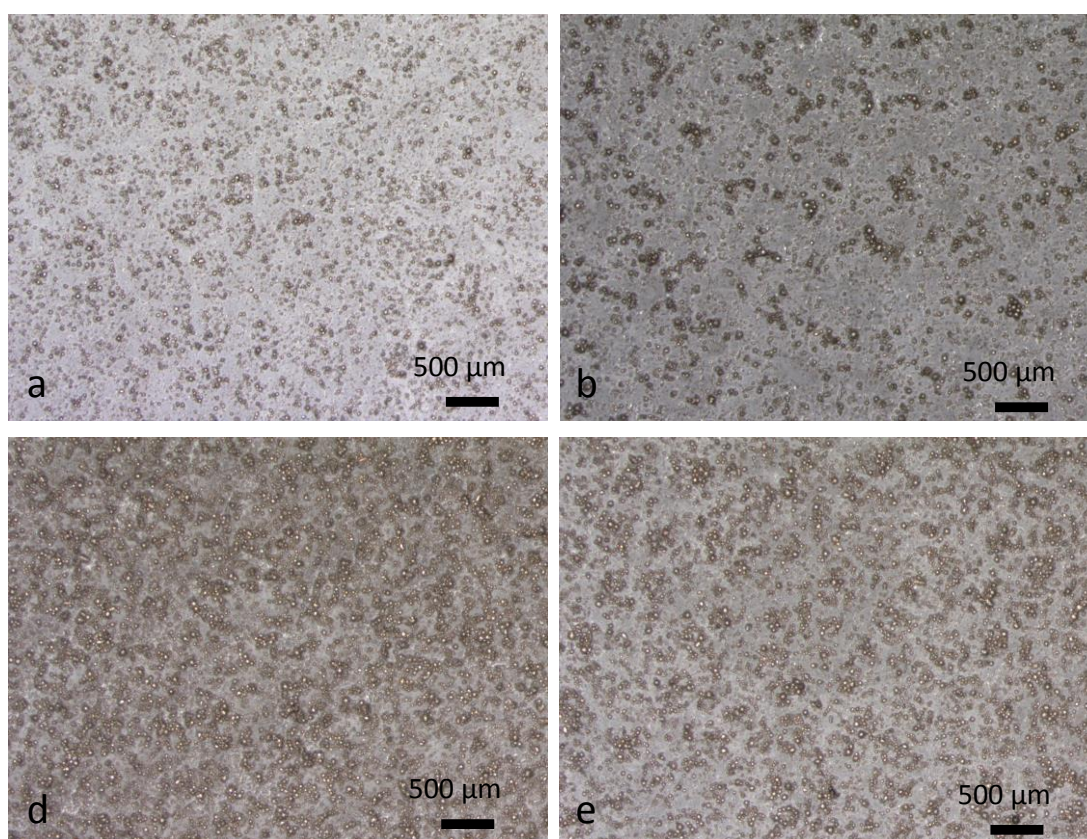


Figura 4.2.17. Micrografías de las superficies de C-30MgP (a), C-30MgC (b), C-50MgP (c), C-50MgC (d).

Incluso en el caso de las cintas con un contenido en Mg del 50% (C-50Mg), la mayor aglomeración de partículas produce el efecto óptico de que la cinta preparada con CTAB tiene menor carga que la preparada con PEI. Este efecto es debido a la presencia

de huecos o caminos de polímero sin carga metálica entre los diferentes puntos de aglomeración de partículas. En base a esta observación microestructural, se podría decir que la capacidad de dispersar del surfactante CTAB es menor que la del polielectrolito PEI. Este comportamiento contradice la hipótesis inicial, en la que se esperaría que un tensoactivo como el CTAB, al tener una cadena apolar, mejorara la dispersión del Mg en un disolvente apolar como el THF en mayor medida que un polielectrolito, y con ello mejorara la dispersión de Mg en la matriz de PLA una vez evaporado el disolvente.

En la Figura 4.2.18 se muestran micrografías de la superficie rugosa de las cintas de 10 y 50% de Mg (C-10Mg y C-50Mg) y los dos dispersantes (PEI y CTAB) hechas con microscopio óptico a mayor aumento. La superficie de la cinta expuesta a la evaporación muestra el relieve marcado por la morfología y el tamaño de las partículas de Mg. Para el caso de las muestras C-10Mg, podemos apreciar cómo una parte de las partículas esféricas sobresale del continuo de PLA y están separadas unas de otras. Al aumentar el contenido en Mg, para el caso de C-50Mg, observamos aglomerados de partículas y que sobresalen aún más sobre la matriz de PLA.

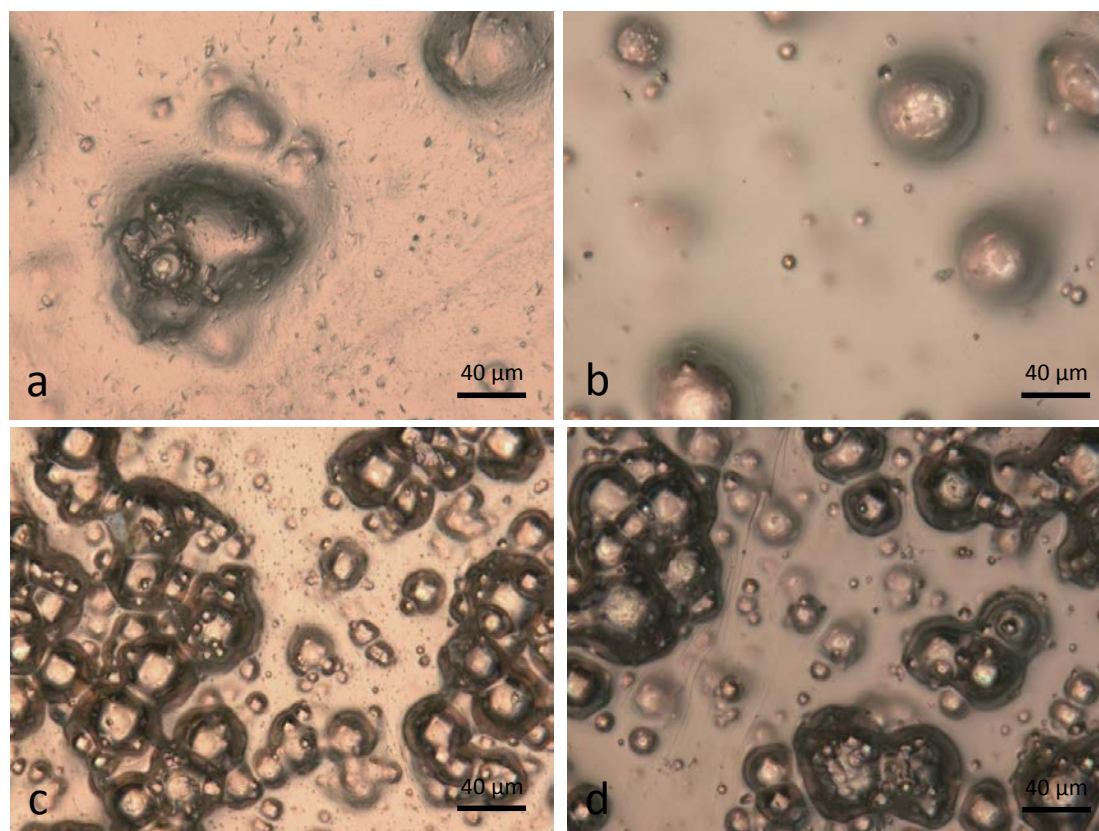


Figura 4.2.18. Micrografías de las superficies de C-10MgP (a), C-10MgC (b), C-50MgP (c), C-50MgC (d).



Para estudiar más en detalle la dispersión de las partículas en el compuesto, así como la interfaz partícula-polímero, se ha caracterizado por MEB la sección transversal de los compuestos para dos contenidos de Mg (Figura 4.2.19 y Figura 4.2.20). En todos los casos se observa que las partículas de Mg están embebidas en la matriz polimérica, y siempre quedan protegidas superficialmente por una capa de PLA. La distribución del polímero alrededor de las partículas podría deberse al proceso de nucleación inducida del Mg sobre el PLA, que ejercen de agente nucleante durante la evaporación del disolvente.

En cuanto a la homogeneidad, en las cintas de baja carga, con un contenido del 10%Mg (C-10MgP y C-10MgC, Figura 4.2.19), se observa la buena dispersión con ambos estabilizantes. En este caso también se ven las irregularidades que producen las partículas en la cinta dando rugosidad al material.

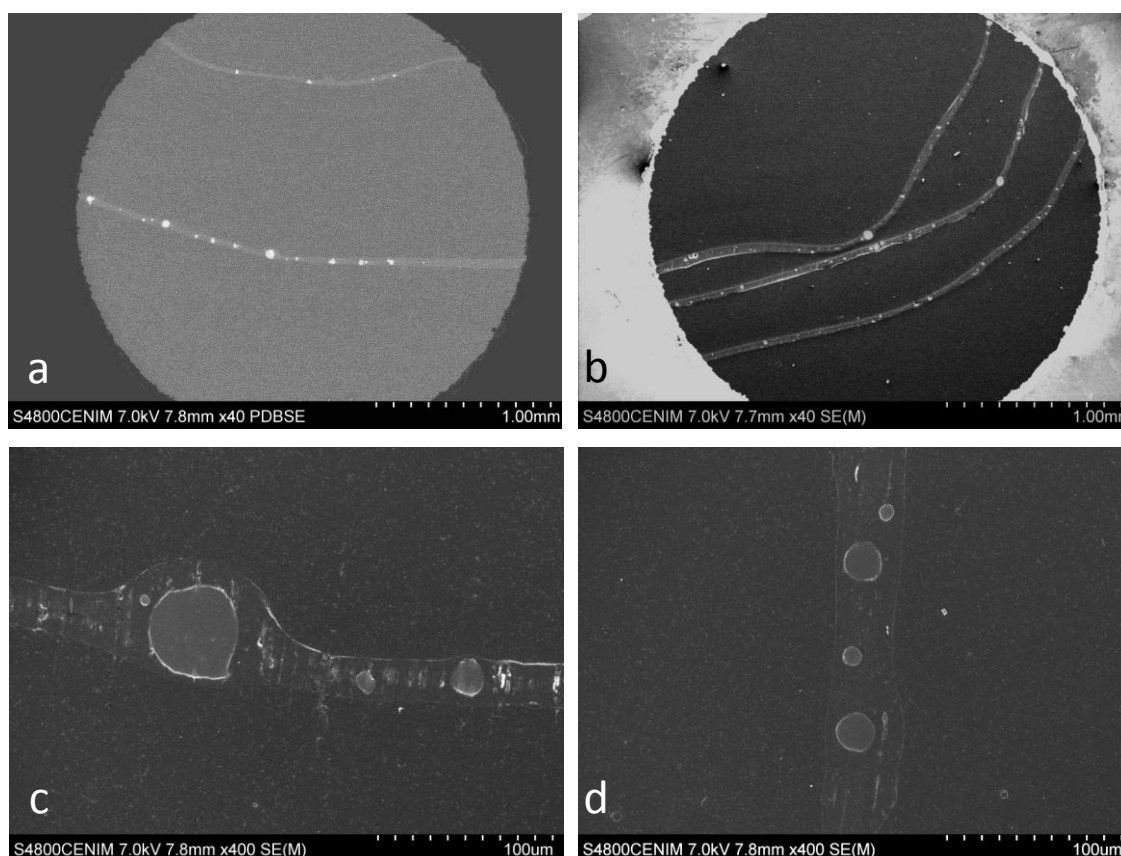


Figura 4.2.19. Microscopía MEB del corte transversal de los compuestos a distintos aumentos: C-10MgP (a y c) y C-10MgC (b y d).

Al aumentar el contenido de carga hasta un 50% (C-50Mg, Figura 4.2.20) se sigue observando una buena dispersión de Mg, aunque aparecen aglomerados de partículas. En el corte transversal se observa el fenómeno de aglomeración por apilamiento de

partículas en el eje perpendicular al plano de la cinta que afectará a la rugosidad del material. La inspección de las muestras sugiere que en el caso de las suspensiones dispersadas con CTAB hay un mayor número de este tipo aglomerados que en el caso de suspensiones dispersadas con PEI.

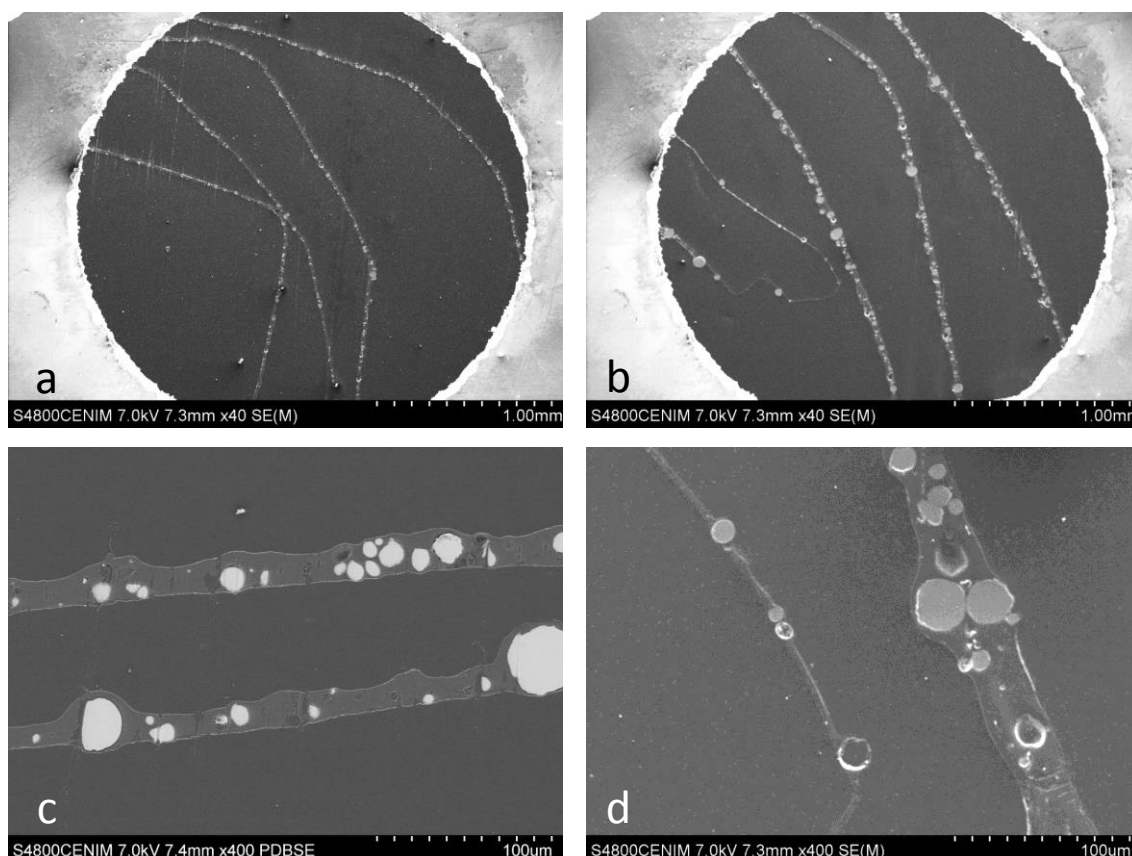


Figura 4.2.20. Micrografías MEB del corte transversal de los compuestos a distintos aumentos de C-50MgP (a y c) y C-50MgC (b y d).

Las rugosidades de las muestras fueron estudiadas mediante un perfilómetro óptico. Se han evaluado diferentes parámetros recogidos en la Tabla 4.2.6: (i) la rugosidad media superficial,  $S_a$ , parámetro que determina la desviación media del perfil que se evalúa, y que es el más utilizado en este tipo de estudios, (ii) la altura media de los picos,  $R_h$ , que se utiliza como apoyo a la medida de rugosidad media, y que en nuestro caso resulta de gran utilidad para determinar el tamaño de los aglomerados de partículas de Mg, y el perfil de la superficie de la cinta o cuánto sobresale la partícula de Mg sobre la matriz polimérica, y (iii) el parámetro de curtosis  $S_{ku}$ , que evalúa lo abrupta que es la rugosidad superficial, así como la aleatoriedad de las diferentes alturas. Estos parámetros se midieron en varias áreas de las cintas con objeto de conseguir una media representativa (ver experimental). Los errores considerados son los errores experimentales o de medida

dados por la precisión del perfilómetro. En la determinación de errores, hay que tener en cuenta que la distribución de tamaño de partícula de la población de partículas de Mg es muy amplia, de modo que que estamos midiendo la rugosidad media debida a la incorporación de partículas con radios comprendidos entre 1 y 100  $\mu\text{m}$  (ver Figura 4.1.2). La amplitud del rango de tamaños de las partículas hace irrelevante establecer cualquier tipo de desviación de la media de las medidas realizadas. Por ello, los valores que muestra la tabla no pueden evaluarse estrictamente en forma de valores absolutos, pero sí pueden definir la morfología superficial evidenciando la tendencia de la rugosidad a aumentar a medida que la cantidad de partículas incorporadas a las cintas es mayor.

Tabla 4.2.6. Medidas de rugosidad en términos de rugosidad media superficial  $S_a$ , la altura media  $R_h$  y el parámetro de curtosis  $S_{ku}$ .

Muestra	PEI			CTAB		
	$S_a$	$R_h$ ( $\mu\text{m}$ )	$S_{ku}$	$S_a$	$R_h$	$S_{ku}$
<b>C-5Mg</b>	1,0	6,4	0,2385	1,0	6,4	0,2284
<b>C-10Mg</b>	2,5	9,9	0,2069	3,0	10,8	0,1717
<b>C-30Mg</b>	3,8	13,4	0,1397	3,8	13,7	0,1202
<b>C-50Mg</b>	4,7	18,9	0,0923	6,3	19,7	0,1274

Errores experimentales:  $S_a$  y  $R_h \pm 0.1$   $S_{ku} \pm 0.0001$

En primer lugar, observamos en la Tabla 4.2.6 que a mayor contenido de Mg, mayor es la rugosidad de la muestra en términos de  $S_a$  y  $R_h$ . El aumento de  $S_a$  se debe a que conforme aumenta la carga aparecen mayor número de irregularidades en la superficie de la cinta. El aumento de  $R_h$  se debe principalmente a un incremento del número de aglomerados, como se observó en la Figura 4.2.17, debido a que las partículas no solo se agrupan en el plano de la superficie de la cinta (unas al lado de otras), sino que también forman aglomerados perpendicularmente al plano de la cinta (unas sobre otras), como se aprecia en la Figura 4.2.20d.

En Figura 4.2.17 se observó una peor dispersión para el caso de materiales dispersados con CTAB. Este fenómeno es evidente en las medidas de rugosidad. En el caso de la  $S_a$ , las medias de rugosidad son superiores al utilizar CTAB, con una variación mayor en las cintas con más carga (C-50Mg). También hay ligeras diferencias en el parámetro de  $R_h$ , debido a la aglomeración de partículas en el eje perpendicular al plano de la cinta.

Las partículas se apilan en mayor medida y la altura de las irregularidades respecto a la superficie de la cinta aumenta.

En el caso del factor de Curtosis, con el cual evaluamos la distribución de las alturas de las irregularidades, observamos que disminuye conforme aumenta la cantidad de carga en las cintas, esto significa que, aunque la rugosidad es mayor en las cintas de alto contenido en Mg (C-30Mg y C-50Mg), es a su vez menos abrupta que en las cintas con menor cantidad de Mg (C-5Mg y C-10Mg). La Figura 4.2.21 muestra un esquema de la distribución de partículas y aglomerados en los dos casos extremos de contenido en Mg. La aglomeración de partículas ocurre de manera homogénea, por lo que aunque la altura de las irregularidades se triplique desde el 5% hasta el 50% de Mg haciendo aumentar la  $S_a$ , en general la distribución de la altura de lo aglomerados es menos aleatoria, y la superficie es mucho más uniforme. Y esta uniformidad es mayor en el caso en el que las partículas de Mg se hayan dispersado con PEI en la disolución polimérica, lo que también indica un mayor grado de dispersión.

Las medidas de rugosidad confirman los resultados observados en las imágenes de microscopía óptica. La rugosidad aumenta al aumentar el contenido de Mg, debido principalmente al aumento de irregularidades, aunque también de manera secundaria debido al aumento y distribución de los aglomerados, siendo siempre ligeramente superior en el caso de utilizar CTAB. Como se ha comentado anteriormente, en contra de lo esperado, el tensoactivo dispersa en menor medida las partículas de Mg en la matriz de PLA que el polielectrolito. Esto indica que la afinidad del CTAB con el disolvente orgánico del PLA (THF) es una condición necesaria pero no suficiente para promover una mejor distribución de las partículas en el polímero. Por el contrario, la afinidad del PEI y el PLA resulta suficientemente alta como para compensar la menor capacidad de dispersión del polielectrolito en un medio apolar [19]. Es más, desde el punto de vista coloidal, la dispersión que propicia una cadena hidrofílica como la de la PEI, junto a la miscibilidad parcial del agua en el THF, permite especular con la posibilidad de que los grupos amina de la PEI puedan estar suficientemente activos como para favorecer la dispersión y estabilidad de las partículas de Mg en la disolución de PLA, pero también para enlazar químicamente la partícula de Mg al PLA de la matriz. Este resultado se apoya además en la caracterización estructural y térmica descrita anteriormente.

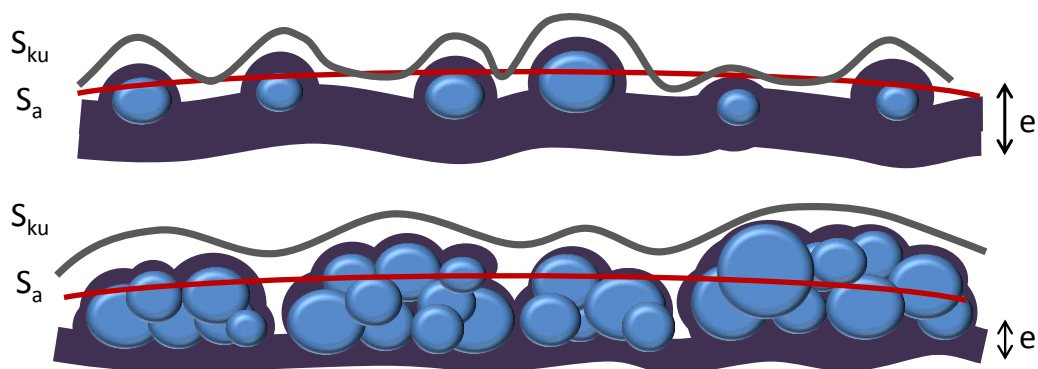


Figura 4.2.21. Esquema representativo de la rugosidad para dos contenidos de Mg. En la figura se representa  $e$  (espesor de las cintas sin partículas),  $S_{ku}$ -esquemática mediante la línea gris (factor de Curtosis) y  $S_a$ - esquematizada mediante la línea roja (rugosidad media)

En la Tabla 4.2.7 se recogen los resultados de los espesores para la muestra C-PLA y dos contenidos de Mg extremos, C-10MgC/C-10MgP y C-50MgC/C-50MgP, medidos en las micrografías de SEM. A efectos comparativos con el material sin Mg (C-PLA), se han determinado los espesores de la matriz polimérica. Tal y como se muestra en la Figura 4.2.21, el espesor determinado ( $e$ ) es el que corresponde a la matriz continua entre partícula y partícula. A priori, en el colado en cinta, el espesor de la cinta tras el secado puede depender de varios factores, como la viscosidad de la suspensión y la velocidad de avance o la apertura de la rejilla del equipo de colada. Sin embargo, aunque la viscosidad de las suspensiones varía con el contenido en partículas de Mg (C-10Mg y C-50Mg), al mantener fijos los parámetros del equipo de colada para todas las composiciones, el espesor de la película húmeda es constante, y las diferencias en espesor de la matriz continua de PLA, una vez evaporado el disolvente, radican en el volumen libre del PLA y la cantidad de Mg en la suspensión colada.

Por ello, en las medidas recogidas en la Tabla 4.2.7, observamos que el espesor de las cintas C-PLA es menor que en los materiales compuestos. Para la muestra de referencia C-PLA, la pérdida del disolvente THF durante su secado produce el secado del PLA libre de anclajes, asociado a una reducción en el volumen llegando a un espesor final de  $\sim 24 \mu\text{m}$ . Cuando se introduce un 10% en masa de carga en la matriz el espesor aumenta, especialmente en el caso del compuesto C-10MgC ( $\sim 46 \mu\text{m}$ ). Con un 10% de Mg, cabría esperar que durante la evaporación, la deposición del PLA se produjera de una manera menos compacta por la presencia de las partículas de Mg, disminuyendo la densidad del PLA y aumentando el volumen de exclusión entre cadenas poliméricas. En este caso, las diferencias observadas entre el uso de la PEI y del CTAB se pueden

asociar a las interacciones que crean ambos dispersantes con la matriz de PLA. Como ya se ha dicho anteriormente los grupos amina del PEI interaccionan con los grupos carboxilo del PLA, lo que origina una mayor atracción de las cadenas de la matriz hacia el Mg y una mayor densificación o cristalización. Este fenómeno, unido a la mejor dispersión de las partículas de Mg que propicia el PEI, da lugar a un menor espesor de la cinta ( $\sim 36 \mu\text{m}$ ).

En el caso de incluir un 50% de carga de Mg, el espesor de la red continua de PLA en la cinta vuelve a disminuir, y la diferencia de espesores entre ambos dispersantes desaparece, siendo en ambos casos de  $\sim 30 \mu\text{m}$ . Esto puede deberse a dos fenómenos o a la superposición de ambos: (i) una mayor densificación del PLA, debido al aumento de carga y la consecuente disminución del espacio entre partículas/aglomerados, y (ii) el carácter nucleante de las partículas de Mg en la precipitación del polímero.

Tabla 4.2.7. Espesores medios de las cintas C-PLA y C-10MgP, C-10MgC, C-50MgP y C-50MgC en las zonas libres de partículas.

	C-PLA	C-10Mg	C-50Mg
PEI	$24 \pm 3$	$36 \pm 7$	$30 \pm 7$
CTAB		$46 \pm 4$	$30 \pm 2$

Para completar la caracterización superficial, se ha determinado el ángulo de contacto, con objeto de evaluar la hidrofiliidad o hidrofobicidad de las cintas y composiciones estudiadas. En la Figura 4.2.22 se muestran los ángulos de contacto del agua en la cara rugosa de las cintas para tres contenidos de Mg y los dos estabilizantes: C-PLA, C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP, C-30MgC, C-50MgP, C-50MgC.

A pesar de que la microscopía muestra que las partículas de Mg están en todos los casos recubiertas por el PLA y por ello no están directamente expuestas superficialmente, las medidas del ángulo de contacto oscilan entre  $75^\circ$  y  $85^\circ$ , con una ligera tendencia en aumento de la hidrofiliidad conforme aumenta el contenido en Mg independientemente del dispersante utilizado. Como hemos visto en el estudio de la rugosidad, la altura media,  $R_h$ , aumenta conforme aumenta la carga, pero el perfil de la rugosidad (determinado por el factor de Curtosis,  $R_{ku}$ ) disminuye. En este caso podemos decir que el factor de Curtosis determina el carácter hidrofílico de la superficie de las cintas, y que la hidrofiliidad aumenta conforme la superficie es menos abrupta y la rugosidad más uniforme.

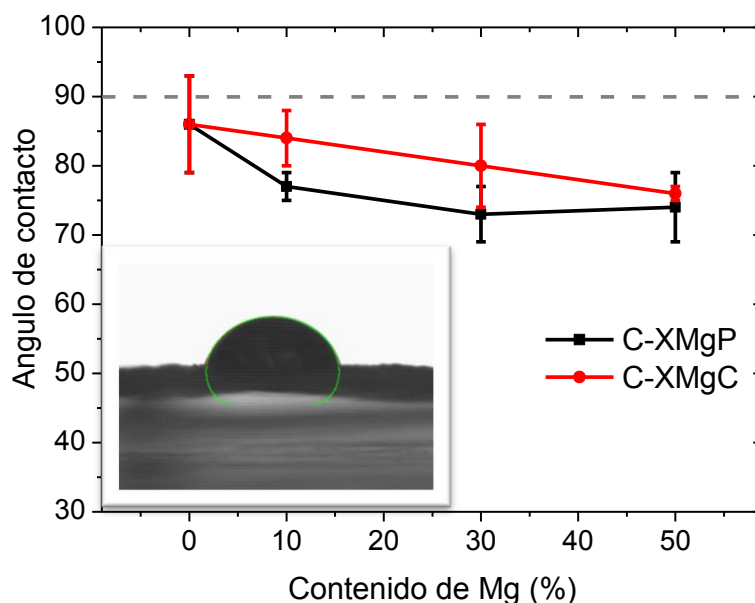


Figura 4.2.22. Ángulos de contacto para las muestras C-PLA, C-10Mg, C-30Mg y C-50Mg en función del estabilizante utilizado para dispersar el Mg en la disolución de PLA: CTAB (C-XMgC) y PEI (C-XMgP).

Las características estructurales de la matriz de los materiales compuestos se han evaluado de forma indirecta determinando las propiedades de transporte de las cintas de PLA en función del contenido en Mg. Se llevaron a cabo mediciones de permeabilidad de gases para el CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. Los parámetros de permeación estudiados para las cintas de PLA/Mg son el coeficiente de permeabilidad (P), la difusión (D) y la solubilidad aparente (S) relacionados por la ecuación:

$$P = D \cdot S$$

Ec. 4.2.1

Estos coeficientes se determinan mediante la representación de la presión de cada gas (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>) en la cámara de baja presión frente al tiempo (Figura 4.2.23). En la Tabla 4.2.8 se recogen los parámetros de permeación obtenidos de la Figura 4.2.23, donde P se relaciona directamente con la pendiente de la curva en la zona lineal y D se relaciona con la extrapolación del ajuste lineal hasta el eje de abscisas (tiempo de retardo). Para la discusión de resultados se han tenido en cuenta los diámetros cinéticos de los gases, siendo: 3,30 Å el del CO<sub>2</sub>, 3,46 Å el del O<sub>2</sub> y 3,64 Å el del N<sub>2</sub>.

Para facilitar la interpretación de los resultados, los valores de permeabilidad (P) y difusión (D) de la Tabla 4.2.8 se representan en la Figura 4.2.24. El coeficiente de difusión es dependiente del tamaño de las moléculas del gas que se traspase a través de la membrana, por lo que en orden ascendente se esperaría que la difusión fuera el N<sub>2</sub> seguido del O<sub>2</sub> y del CO<sub>2</sub>.

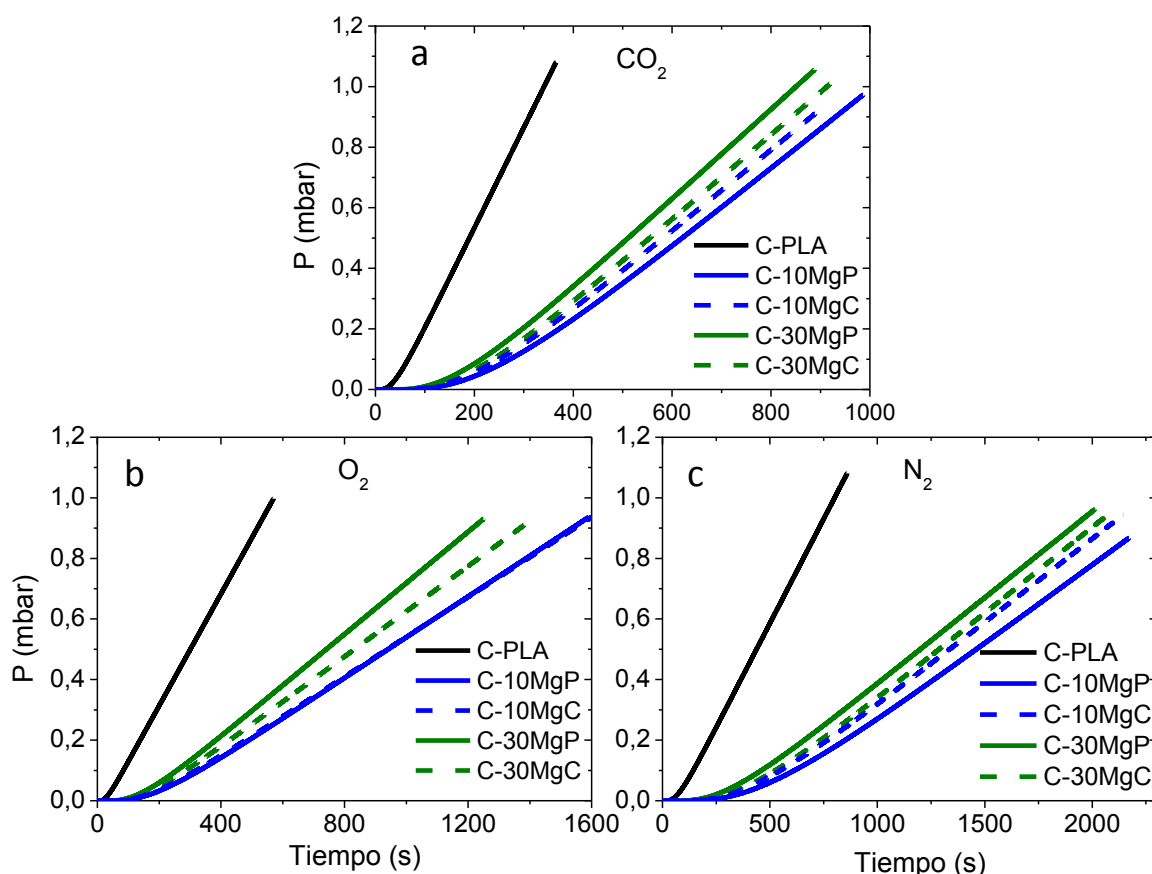


Figura 4.2.23. Permeación a través de las cintas C-PLA, C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP y C-30MgC de  $\text{CO}_2$  (a),  $\text{O}_2$  (b) y  $\text{N}_2$  (c) a  $30^\circ\text{C}$ .

Sin embargo, como se observa en la Figura 4.2.24b y en la Tabla 4.2.8 los valores de difusión para el  $\text{CO}_2$  son menores de los esperados. Esto indica que existe interacción del  $\text{CO}_2$  con la matriz de PLA, lo que produce un aumento de su solubilidad y una disminución de su difusión (Ec. 4.2.1). La permeabilidad, por su parte, disminuye conforme aumenta el diámetro cinético de los gases, como era de esperar.

La adición de Mg produce un aumento del tiempo de retardo y una disminución de la pendiente en el estado estacionario o lineal, como vemos en las gráficas presión-tiempo Figura 4.2.23. Esto se traduce en una disminución en el coeficiente de difusión y de permeabilidad, Tabla 4.2.8, y un ligero aumento de la solubilidad.

Por lo tanto, la adición de Mg en las cintas produce una disminución en la permeabilidad a los gases, mayor hasta en un 15% en el caso del uso del PEI. Esto se relaciona directamente con la cristalinidad de los materiales, que en el caso de los procesados con PEI son mayores (45 y 31% para C-10MgP y C-30MgP,



respectivamente) que en el caso del CTAB (28 y 30% para C-10MgC y C-30MgC, respectivamente).

Tabla 4.2.8. Parámetros de permeación, coeficiente de permeabilidad (P), difusión(D) y solubilidad aparente (S) de las cintas C-PLA, C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP y C-30MgC para CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>.

Muestra	Gas	P * (barrers)	D x 10 <sup>12</sup> (m <sup>2</sup> /s)	S x 10 <sup>4</sup> cm <sup>3</sup> (STP)/cm <sup>3</sup> ·cmHg
C-PLA	CO <sub>2</sub>	1,08	2,48	1,47
	O <sub>2</sub>	0,61	3,18	0,64
	N <sub>2</sub>	0,45	1,29	1,47
C-10MgP	CO <sub>2</sub>	1,03	2,32	1,49
	O <sub>2</sub>	0,53	2,85	0,63
	N <sub>2</sub>	0,41	1,11	1,24
C-10MgC	CO <sub>2</sub>	1,05	2,53	1,39
	O <sub>2</sub>	0,51	3,03	0,57
	N <sub>2</sub>	0,43	1,25	1,15
C-30MgP	CO <sub>2</sub>	0,91	1,93	1,58
	O <sub>2</sub>	0,52	2,25	0,77
	N <sub>2</sub>	0,35	1,05	1,12
C-30MgC	CO <sub>2</sub>	0,94	1,99	1,58
	O <sub>2</sub>	0,50	2,46	0,68
	N <sub>2</sub>	0,38	9,79	1,30

\*P ±10<sup>-4</sup> barrers

Por otro lado, la disminución de la permeabilidad con el aumento en el contenido de Mg se puede relacionar con el efecto barrera que crean las partículas [20], porque dificultan el paso de las moléculas de los gases a través de los caminos que crean [21] o debido al volumen libre que presenta el polímero [22]. Como ya se ha comprobado en las medidas de espesor del polímero en las cintas, cuanto mayor es el contenido en Mg el espesor disminuye, debido a una disminución del volumen libre del polímero y a una mayor densificación del material. Este fenómeno parece estar asociado al anclaje de la matriz con el sistema partícula-estabilizante, que origina estructuras más cohesivas con mejores propiedades barrera.

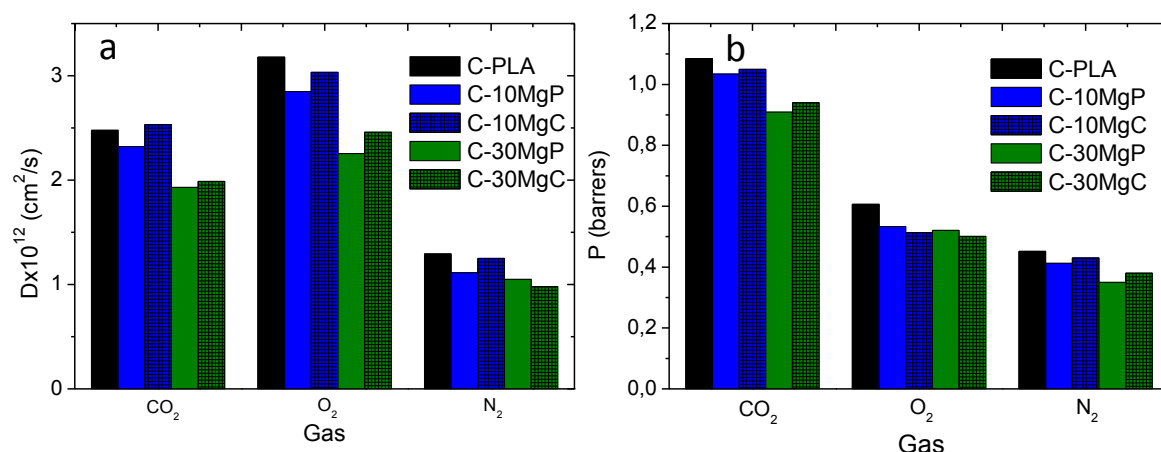


Figura 4.2.24. Coeficiente de permeabilidad (P) (a) y difusión(D) (b) de las cintas C-PLA, C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP y C-30MgC para CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>.

Los coeficientes de permeabilidad de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> para el C-PLA son más bajos que para poliestireno (PS) (2,2 barrer con N<sub>2</sub>) e incluso para otros PLA estudiados en la bibliografía (1,3 barrer con N<sub>2</sub>), pero más altos que poli (tereftalato de etileno) (PET) (0,008 barrer con N<sub>2</sub>) por lo que el PLA es un material con aplicación en envasado para alimentos peredeceros [23]. En cuanto a las aplicaciones en apósitos, el oxígeno juega un papel fundamental en la curación de la herida para proporcionar el ambiente óptimo para la curación [24]. Las cintas estudiadas no presentan una alta permeabilidad a este gas pero autores como Pandit Abhay *et al.* [25] demuestran que los apósitos impermeables al oxígeno pueden ser útiles en las primeras etapas de curación. Además, nuestros materiales no presentan una alta permeabilidad inicial al O<sub>2</sub>, pero la reactividad del Mg y la degradación del PLA (con formación de grietas y poros) podrían ser suficientes como para aumentar su permeabilidad a tiempos cortos y hacer factible el uso de este tipo de cintas en esta aplicación.

## Bibliografía

- [1] C. A. Rodrigues, A. Tofanello, I. L. Nantes, and D. S. Rosa, "Biological Oxidative Mechanisms for Degradation of Poly(lactic acid) Blended with Thermoplastic Starch," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 3, no. 11, pp. 2756–2766, 2015.
- [2] M. Santamaria, F. Di Quarto, S. Zanna, and P. Marcus, "Initial surface film on magnesium metal: A characterization by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and photocurrent spectroscopy (PCS)," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 3, pp. 1314–1324, 2007.
- [3] M. Guo, F. Muhammad, A. Wang, W. Qi, N. Wang, Y. Guo, Y. Wei, and G. Zhu, "Magnesium hydroxide nanoplates: A pH-responsive platform for hydrophobic anticancer drug delivery," *J. Mater. Chem. B*, vol. 1, no. 39, pp. 5273–5278, 2013.
- [4] J. O. Akindoyo, M. D. H. Beg, S. Ghazali, H. P. Heim, and M. Feldmann, "Effects of surface modification on dispersion, mechanical, thermal and dynamic mechanical properties of injection molded PLA-hydroxyapatite composites," *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 103, pp. 96–105, Dec. 2017.
- [5] A. Abdal-Hay, F. A. Sheikh, and J. K. Lim, "Air jet spinning of hydroxyapatite/poly(lactic acid) hybrid nanocomposite membrane mats for bone tissue engineering," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 102, pp. 635–643, 2013.
- [6] D. Jeevitha and K. Amarnath, "Chitosan/PLA nanoparticles as a novel carrier for the delivery of anthraquinone: Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity evaluation," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 101, pp. 126–134, 2013.
- [7] S. Wang, J. Zhang, Y. Wang, and M. Chen, "Hyaluronic acid-coated PEI-PLGA nanoparticles mediated co-delivery of doxorubicin and miR-542-3p for triple negative breast cancer therapy," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 12, no. 2, pp. 411–420, 2016.
- [8] P. Pan and Y. Inoue, "Polymorphism and isomorphism in biodegradable polyesters," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 34, no. 7, pp. 605–640, 2009.
- [9] H. Salas-Papayanopolos, A. B. Morales-Cepeda, S. Sanchez, P. G. Lafleur, and I. Gomez, "Synergistic effect of silver nanoparticle content on the optical and thermo-mechanical properties of poly(l-lactic acid)/glycerol triacetate blends," *Polym. Bull.*, vol. 74, no. 12, pp. 4799–4814, 2017.
- [10] W. A. Ribeiro Neto, I. H. L. Pereira, E. Ayres, A. C. C. De Paula, L. Averous, A. M. Góes, R. L. Oréfice, and R. E. Suman Bretas, "Influence of the microstructure and mechanical strength of nanofibers of biodegradable polymers with hydroxyapatite in stem cells growth. Electrospinning, characterization and cell viability," *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 97, no. 10, pp. 2037–2051, 2012.
- [11] M. Persson, G. S. Lorite, H. E. Kokkonen, S. W. Cho, P. P. Lehenkari, M. Skrifvars, and J. Tuukkanen, "Effect of bioactive extruded PLA/HA composite

- films on focal adhesion formation of preosteoblastic cells,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 121, pp. 409–416, 2014.
- [12] L. I. y C. M. L. Garrido, *Ciencia y Tecnología de Materiales Poliméricos*. 2004.
  - [13] P. Müller, B. Imre, J. Bere, J. Móczó, and B. Pukánszky, “Physical ageing and molecular mobility in PLA blends and composites,” *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 122, no. 3, pp. 1423–1433, 2015.
  - [14] F. X. Espinach, S. Boufi, M. Delgado-Aguilar, F. Julián, P. Mutjé, and J. A. Méndez, “Composites from poly(lactic acid) and bleached chemical fibres: Thermal properties,” *Compos. Part B Eng.*, vol. 134, pp. 169–176, 2018.
  - [15] X. Liu, T. Wang, L. C. Chow, M. Yang, and J. W. Mitchell, “Effects of inorganic fillers on the thermal and mechanical properties of poly(lactic acid),” *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2014, 2014.
  - [16] M. A. Cuiffo, J. Snyder, A. M. Elliott, N. Romero, S. Kannan, and G. P. Halada, “Impact of the fused deposition (FDM) printing process on polylactic acid (PLA) chemistry and structure,” *Appl. Sci.*, vol. 7, no. 6, 2017.
  - [17] T. Motoyama, T. Tsukegi, Y. Shirai, H. Nishida, and T. Endo, “Effects of MgO catalyst on depolymerization of poly-l-lactic acid to l,l-lactide,” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 92, no. 7, pp. 1350–1358, 2007.
  - [18] A. Ansari, A. Ali, M. Asif, and Shamsuzzaman, “Microwave-assisted MgO NP catalyzed one-pot multicomponent synthesis of polysubstituted steroidal pyridines,” *New J. Chem.*, vol. 42, no. 1, pp. 184–197, 2018.
  - [19] V. H. Orozco, V. Kozlovskaya, E. Kharlampieva, B. L. López, and V. V. Tsukruk, “Biodegradable self-reporting nanocomposite films of poly(lactic acid) nanoparticles engineered by layer-by-layer assembly,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 51, no. 18, pp. 4127–4139, 2010.
  - [20] Y. A. Arfat, J. Ahmed, M. Ejaz, and M. Mullah, “Polylactide/graphene oxide nanosheets/clove essential oil composite films for potential food packaging applications,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 107, pp. 194–203, 2018.
  - [21] B. Şengül, R. M. A. El-abassy, A. Materny, and N. Dilsiz, “Poly(lactic acid)/Organo-Montmorillonite Nanocomposites: Synthesis, Structures, Permeation Properties and Applications,” *Polym. Sci. - Ser. A*, vol. 59, no. 6, pp. 891–901, 2017.
  - [22] P. Pandey and R. S. Chauhan, “Membranes for gas separation,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 26, no. 6, pp. 853–893, 2001.
  - [23] H. J. Lehermeier, J. R. Dorgan, and J. D. Way, “Gas permeation properties of poly(lactic acid),” *J. Memb. Sci.*, vol. 190, no. 2, pp. 243–251, 2001.
  - [24] S. Chitrattha and T. Phaechamud, “Porous poly(dl-lactic acid) matrix film with antimicrobial activities for wound dressing application,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 61, pp. 1122–1130, Jan. 2016.
  - [25] P. A. S. and F. D. S., “Effect of oxygen treatment and dressing oxygen permeability on wound healing,” *Wound Repair Regen.*, vol. 2, no. 2, pp. 130–137, Jul. 2002.

### 4.3 Termoprensado e impresión 3D: Conformado de los gránulos de PLA/Mg

En el capítulo 4.1 se describió el procesamiento de las disoluciones mezcla de PLA/Mg, precursoras de los materiales conformados en forma de cinta y del polvo con el que se procesarán las piezas tridimensionales densas por moldeo por compresión y los andamios o piezas porosas por impresión 3D. Como se explicó al final de ese apartado, una vez se evapora el disolvente de las suspensiones mezcla, pueden obtenerse gránulos de PLA/Mg de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$  con una distribución dispersa de partículas de Mg embebidas. Estos gránulos podrían tener ya una aplicación final como relleno o injerto, por ejemplo, en la reparación de lesiones que impliquen la pérdida de masa ósea, pero también pueden ser la materia prima para la fabricación de materiales densos a través de rutas termoplásticas convencionales, o de materiales porosos, si se usa la manufactura aditiva o impresión 3D, por deposición de hilo fundido (*Fusion Deposition Molding, FDM*) para conformar la pieza.

En este capítulo se describe la caracterización físico-química y térmica de los gránulos por espectroscopía de infrarrojo (FTIR-ATR), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y termogravimetría (TGA). Se han seleccionado para ello los materiales procesados mediante PEI debido a que, como se estudió en el capítulo 4.1, la dispersión es mejor utilizando este polielectrolito en las suspensiones, lo cual es un requerimiento imprescindible en el caso del procesado por termopresión. Por otro lado, se optaron por dos composiciones, de 10 y 30% en masa de Mg, ya que al ser los valores estudiados en la bibliografía se podrá llevar a cabo un estudio comparativo. De esta manera se determinará si el anclaje estudiado Mg-PEI-PLA en las cintas compuestas ocurre de la misma manera si realizamos la evaporación del disolvente de forma controlada, y por otro lado, podremos establecer con mayor precisión un ciclo de termoprensado que permita fundir y moldear el material sin degradar el PLA durante el proceso. Una vez caracterizados los gránulos, se procesan los materiales por termoprensado (cilindros), extrusión (filamentos) e impresión 3D (andamios) y se presentan los resultados de su caracterización.

### 4.3.1 Caracterización de los gránulos y diseño del ciclo térmico

Como ya se estudió en el capítulo 4.1, desde las suspensiones mezcla de PLA/Mg pueden obtenerse dos materiales diferentes: (i) las cintas estudiadas en el capítulo 4.2 y (ii) los gránulos compuestos. La principal diferencia entre el procesado de ambos materiales es que en el caso de los gránulos la precipitación del PLA es inducida mediante el uso de un antidisolvente (agua) y el secado se realiza bajo presión (100 mbar), mientras que en las cintas se elimina el disolvente por evaporación a presión y temperatura ambiente. Además, las cintas se someten a un tratamiento térmico, un secado a 60°C por debajo de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), que no induce ningún cambio en la matriz. Sin embargo, los gránulos se secan a una temperatura ligeramente superior, de 80°C, que asegura la eliminación del disolvente ocluido en su interior, pero que al sobrepasar la  $T_g$  podría provocar variaciones en la estructura del PLA.

Con el propósito de determinar las variaciones originadas en los compuestos, estos se caracterizaron mediante FTIR-ATR. En la Figura 4.3.1 se muestran los espectros del PLA de partida junto con los gránulos de P-10MgP y P-30MgP desde 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$  (ver composiciones en Tabla 1 del capítulo 4.1). Todos los espectros presentan similitudes, aunque algunos de ellos tienen ciertas diferencias que deben ser estudiadas.

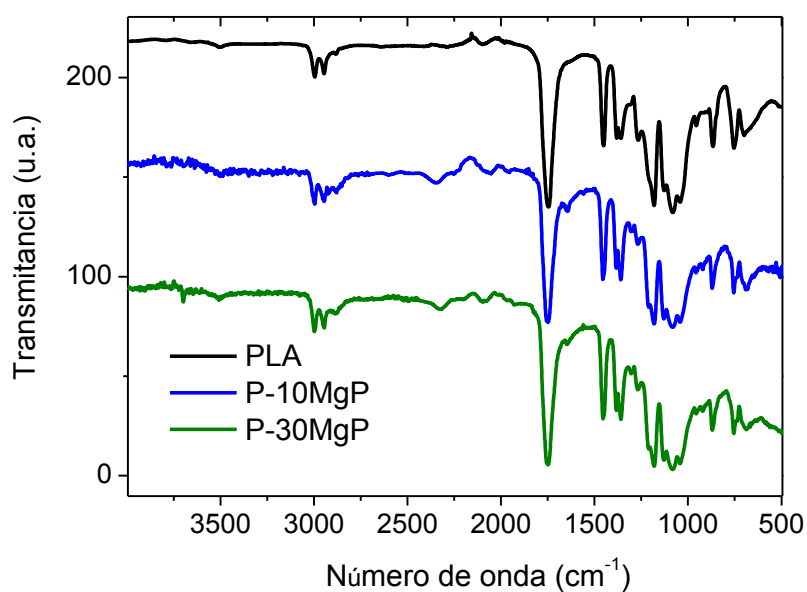


Figura 4.3.1. Espectros infrarrojos para todas las muestras en forma de gránulos P-XPLAP junto con el PLA de partida desde 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$

Las bandas más características del PEI a  $2807\text{ cm}^{-1}$  asociada al estiramiento de los enlaces C-H y a  $1455\text{ cm}^{-1}$  a su flexión, y las bandas a  $3353$  y  $3277\text{ cm}^{-1}$  al estiramiento de los enlaces amina (NH) y la banda a  $1596\text{ cm}^{-1}$  a su flexión no se observan en los espectros de los gránulos. Al igual que en las cintas compuestas, este fenómeno se asocia a enlaces no covalentes con la matriz de PLA [1]. Sin embargo, sí aparece el pico del enlace Mg-OH localizado a  $3696\text{ cm}^{-1}$  que aumenta conforme aumenta la cantidad de Mg en los gránulos (Figura 4.3.2a) que se asocia tanto a la bicapa de degradación del Mg [2] como a la interacción PEI-Mg producida durante el procesamiento coloidal [3].

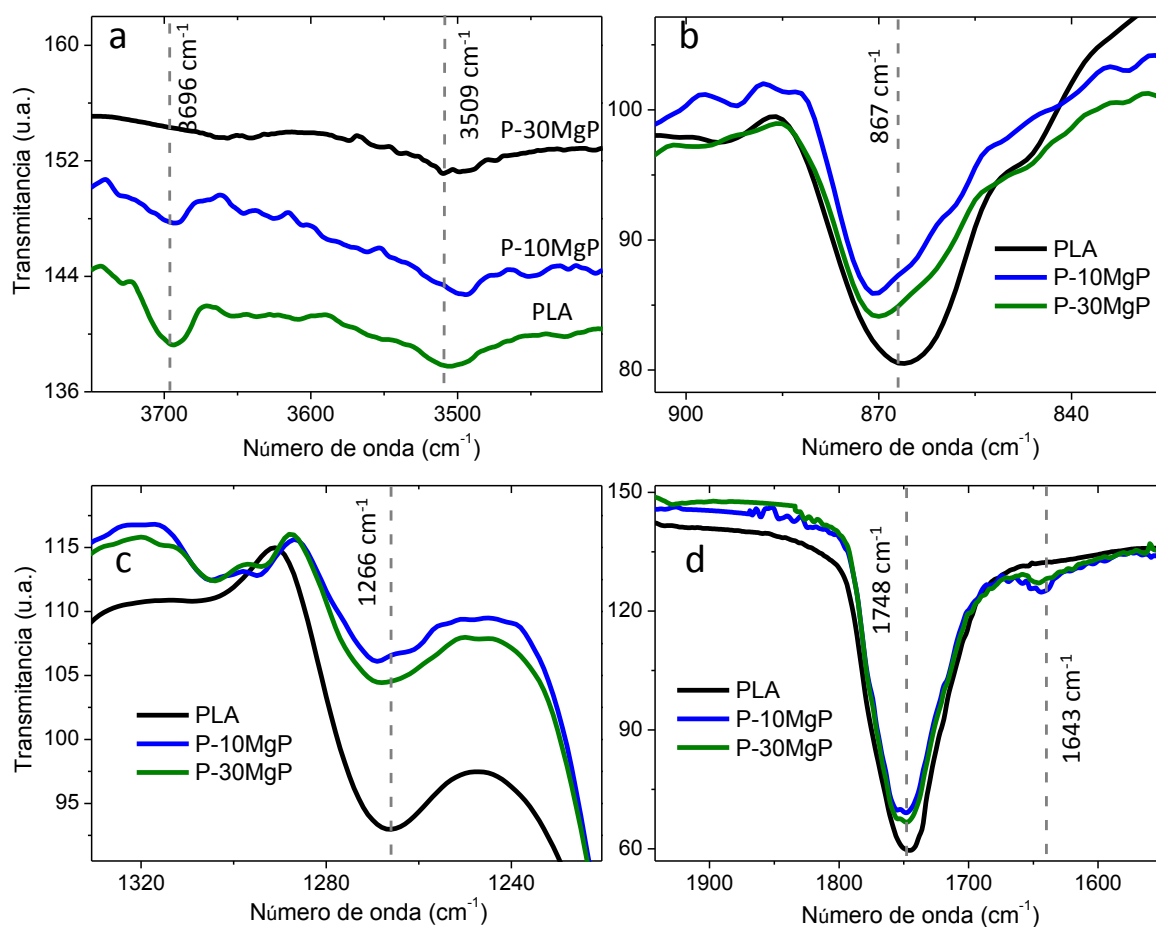


Figura 4.3.2. Picos de los espectros infrarrojos a  $3696$  y  $3509\text{ cm}^{-1}$  (a) a  $867\text{ cm}^{-1}$  (b) a  $1266\text{ cm}^{-1}$  (c) y a  $1748$  y  $1640\text{ cm}^{-1}$  (d) de las muestras procesadas P-10MgP y P-30MgP junto con el PLA de partida.

En cuanto a las bandas del PLA las principales diferencias se observan en las de los grupos funcionales hidroxilo y carbonilo ( $-\text{OH}$  y  $>\text{C}=\text{O}$ ). En primer lugar, en la Figura 4.3.2a se evidencia un desplazamiento hacia menos números de onda de la banda a  $3509\text{ cm}^{-1}$  del enlace  $\text{C}=\text{O}$  del PLA conforme se añade carga, asociado a las interacciones iónicas de este grupo con grupos carboxilos, hidroxilos o aminas [4]. Por otro lado, las

bandas a  $1266\text{ cm}^{-1}$  y  $867\text{ cm}^{-1}$  observadas en la Figura 4.3.2b y c, asociadas a los -OH terminales del PLA, disminuyen su intensidad notablemente en los espectros de los compuestos P-10MgP y P-30MgP con respecto al PLA de partida. La variación en estas bandas demuestra la disminución de los grupos hidroxilos finales de cadena en los compuestos, que podría relacionarse con la interacción del mismo con las aminas (NH) del PEI [5].

Estas variaciones se asociaron en las cintas compuestas a interacciones no covalentes entre los grupos funcionales del PLA, tanto finales como de cadena, pero en el caso de los gránulos, parece observarse cierto grado de reacción entre el PLA y el PEI. En la Figura 4.3.2d observamos la banda más característica del enlace carbonilo a  $1748\text{ cm}^{-1}$ , que presenta una clara disminución en intensidad para los compuestos, por lo que la adición de carga produce cambios significativos en estos grupos funcionales del PLA [4]. Sin embargo, no se podría determinar si se ha producido una reacción química entre el PEI y el PLA si no fuera por la banda secundaria que aparece a  $1643\text{ cm}^{-1}$ , característica de grupos amida (RCONR') [6]. Se evidencia por tanto que hay una variación significativa durante el procesamiento de los materiales P-10MgP y P-30MgP que fomenta el enlace amida entre el PLA y el PEI. Este enlace se seguirá evaluando para definir cuáles son los parámetros de los que depende.

Una vez se han caracterizado los gránulos mediante espectroscopía de infrarrojo y se ha determinado las diferencias que presentan estructuralmente con respecto a las cintas compuestas, se procedió al estudio del comportamiento térmico, que permitirá analizar el efecto de las partículas de Mg en la cristalización del polímero y establecer una comparación entre el comportamiento térmico de los materiales compuestos granulados y los conformados en forma de cinta. Se estudiaron las muestras P-PLA, P-10MgP y P-30MgP, tanto en un primer calentamiento o primer barrido (F10-Figura 4.3.3a) para analizar el material después del procesamiento, como en el segundo calentamiento o tercer barrido, borrado el historial térmico (CR10F10-Figura 4.3.3b). En la Tabla 4.3.1 se muestran los parámetros del DSC, la transición vítrea  $T_g$ , temperatura de cristalización en frío  $T_{cc}$  y, finalmente, la temperatura de fusión,  $T_m$ , para los dos calentamientos estudiados. No se muestra el segundo barrido o enfriamiento desde el fundido, debido a que, como se comentó anteriormente en el epígrafe 4.2.1, el PLA utilizado no cristaliza desde el fundido.



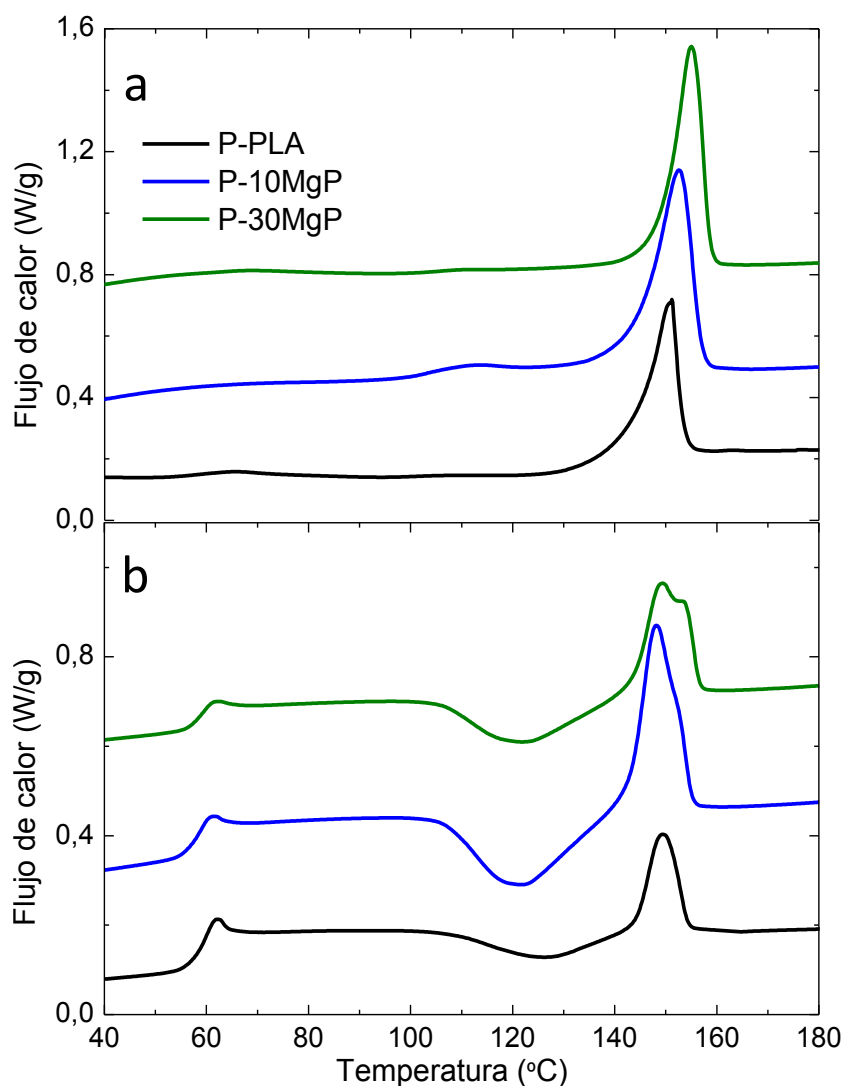


Figura 4.3.3. Curvas de calorimetría diferencial de barrido de los polvos P-PLA, P-10MgP y P-30MgP en el primer barrido (F10) (a) y tercer barrido (CR10F10) (b)

En el primer ciclo de calentamiento, la fusión de los cristales se produce a mayor temperatura conforme aumenta la cantidad de Mg, lo que indica que los cristales formados durante la nucleación son de mayor tamaño y más perfectos con una  $T_m$  mayor. Estos cristales formados desde el polímero en disolución y por nucleación sobre el Mg suelen asociarse con la fase  $\alpha$  del PLA, la más estable [7]. Además de la dificultad en detectar la  $T_{cc}$ , principalmente en el caso de mayor cristalinidad en la muestra P-10MgP, también resultó difícil detectar la  $T_g$  para estos compuestos, al ser una temperatura asociada a la fase amorfa, y por lo tanto minoritaria en compuestos de elevada cristalinidad.

Una vez se ha borrado el historial térmico producido por el proceso de disolución/precipitación durante los dos primeros barridos, se analizaron las muestras en el segundo calentamiento. Como ya se ha visto con anterioridad, los compuestos no son capaces de cristalizar durante el enfriamiento a 10 °C/min (CR10), por ello, en el tercer barrido, las muestras presentan cristalizaciones muy próximas al 0% (Tabla 4.3.1). Por lo tanto, también en los gránulos se observa el efecto nucleante de las partículas de Mg solo en la cristalización desde disolución, y no desde fundido. Al no haber cristalizado, en el segundo calentamiento presentan un pico de cristalización en frío a 119-125 °C, lo que indica que el polímero matriz podría cristalizar durante un tratamiento térmico en  $T_{cc}$ . La  $T_{cc}$  disminuye levemente con la adición de partículas de Mg, lo que indica que la incorporación de partículas en el compuesto favorece la cristalización en frío en tratamientos térmicos que superen los 125 °C. La cristalización en frío de la matriz del material compuesto en un potencial segundo tratamiento térmico ha de tenerse en cuenta en el procesamiento de los materiales por FDM (*Fused Deposition Modeling*), ya que los gránulos primero se extruyen para conformar el filamento y luego se vuelven a fundir durante la impresión de la pieza final.

Tabla 4.3.1. Parámetros del DSC para los barridos F10 y CR10F10 de las muestras de PLA como referencia y P-PLA, P-10MgP y P-30MgP

	F10				CR10F10			
	$T_g$ (°C)	$T_{cc}$ (°C)	$T_m$ (°C)	$X_c$ (%)	$T_g$ (°C)	$T_{cc}$ (°C)	$T_m$ (°C)	$X_c$ (%)
PLA	56	110	147	3	60	122	148	0
P-PLA	59	94	151	15	59	125	150	2
P-10MgP	-	-	153	52	58	121	148	2
P-30MgP	-	94	155	36	59	122	149/154	2

En cuanto a la  $T_g$ , es la misma para todos los compuestos, por lo que la adición de Mg, una vez se ha borrado el historial térmico de los materiales, no restringe el movimiento de cadenas, ni las rigidiza, como también se vio en las cintas. Por último, las fusiones se presentan prácticamente a la misma temperatura, levemente más bajas que en el primer barrido, donde la cristalización de la fase  $\alpha$  aumentaba la  $T_m$  de los compuestos, por lo que la cristalización ( $T_{cc}$ ) observada en la Figura 4.3.3b produce cristales imperfectos en fase  $\alpha'$ . Sin embargo, hay que resaltar que las curvas DSC de P-30MgP muestran dos picos de fusión, a diferencia del resto de gránulos. La fusión múltiple de esta

composición puede estar relacionada con la presencia de cristales sometidos a procesos de fusión y recristalización.

La degradación térmica de los gránulos de P-10MgP y P-30MgP se estudió mediante TGA, como se muestra en la Figura 4.3.4a, en un rango de 20 a 500°C, así como su derivada (Figura 4.3.4b). Los parámetros obtenidos se recogen en la Tabla 4.3.2, ya sea la temperatura de inicio de la degradación ( $T_0$ ), la temperatura de máxima degradación ( $T_p$ ), la temperatura final ( $T_e$ ), la pérdida de masa en el pico de degradación ( $\Delta w_1$ ) y el porcentaje de residuo que presenta el PLA ( $\%_R$ ) y los porcentajes de Mg ( $\%_{Mg}$ ) para los compuestos, una vez se ha tenido en cuenta el residuo que tiene el polímero de partida.

Tabla 4.3.2. Parámetros de degradación del PLA y de los polvos P-10MgP y P-30MgP.

	$T_0$	$T_p$	$T_e$	$\Delta w$	$\%_R$	Mg-PEI/PLA	$T_0$	$T_p$	$T_e$	$\Delta w$	$\%_{Mg}$
PLA	298	351	361	98	0,6	P-10MgP	198	256	265	78	12
						P-30MgP	198	239	246	53	33

Ambas muestras presentan un pico principal de descomposición térmica, asociado a la descomposición del PLA, Figura 4.3.4a. La presencia de partículas de Mg desplaza el inicio de la degradación de los gránulos del compuesto hacia temperaturas más bajas (198 °C) con respecto a los gránulos de polímero (298 °C). Sin embargo, como ya se ha observado tanto en las cintas compuestas como en la bibliografía [8], tampoco en este caso el desplazamiento de los parámetros de degradación es proporcional a la cantidad de Mg añadido en el rango estudiado (10% o 30%). Como se discutió en el epígrafe 4.2.1, la aceleración de la degradación en los compuestos con PLA/Mg se debe al efecto catalizador sobre la degradación térmica del PLA, que tiene el Mg y la doble capa de pasivación MgO/Mg(OH)<sub>2</sub> formada sobre su superficie [9]. En los gránulos, el inicio de la degradación ( $T_0 = 198$  °C) es similar para ambas composiciones, lo que podría estar asociado a que la matriz de PLA contiene una fracción de cadenas poliméricas cortas que funden a baja temperatura en ambas composiciones. Sin embargo, la muestra P-30MgP, al contener una mayor cantidad de partículas de Mg, tiene una temperatura máxima,  $T_p$ , y final,  $T_e$ , de degradación menor que P-10MgP. La  $T_p$  cae de 256 a 239 °C y  $T_e$  cae de 265 a 246 °C, lo que indica que la degradación se acelera en 17-19 °C. Es decir, ambas composiciones comienzan a degradarse a la misma temperatura, pero la que contiene mayor cantidad de Mg se degrada más rápido, al tener un mayor número de núcleos catalizadores de la reacción de degradación.

Las pérdidas de masa de la degradación principal son mucho menores de lo esperado, 78 y 53%, debido a que presentan varias degradaciones secundarias entre los 300 y los 500 °C, en el detalle de la Figura 4.3.4b. Como ya se explicó en el capítulo 4.2, la deshidratación del  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , presente en la bicapa superficial de las partículas de Mg, y la posterior formación del  $\text{MgO}$  cristalino se produce a aproximadamente 400 °C [10]. Esta puede ser una de las razones que expliquen las degradaciones secundarias que observamos para los gránulos. Por otra parte, la degradación del dispersante utilizado, PEI, tiene una  $T_p$  de 374 °C, y al interaccionar con la superficie de las partículas de Mg y con el PLA, puede originar diferentes fases que fundan a temperaturas superiores a 300 °C. Aun así, a 500 °C el porcentaje de residuo asociado a los dos compuestos, P-10MgP y P-30MgP, muestra un ligero exceso con respecto al valor nominal que podría atribuirse al error experimental.

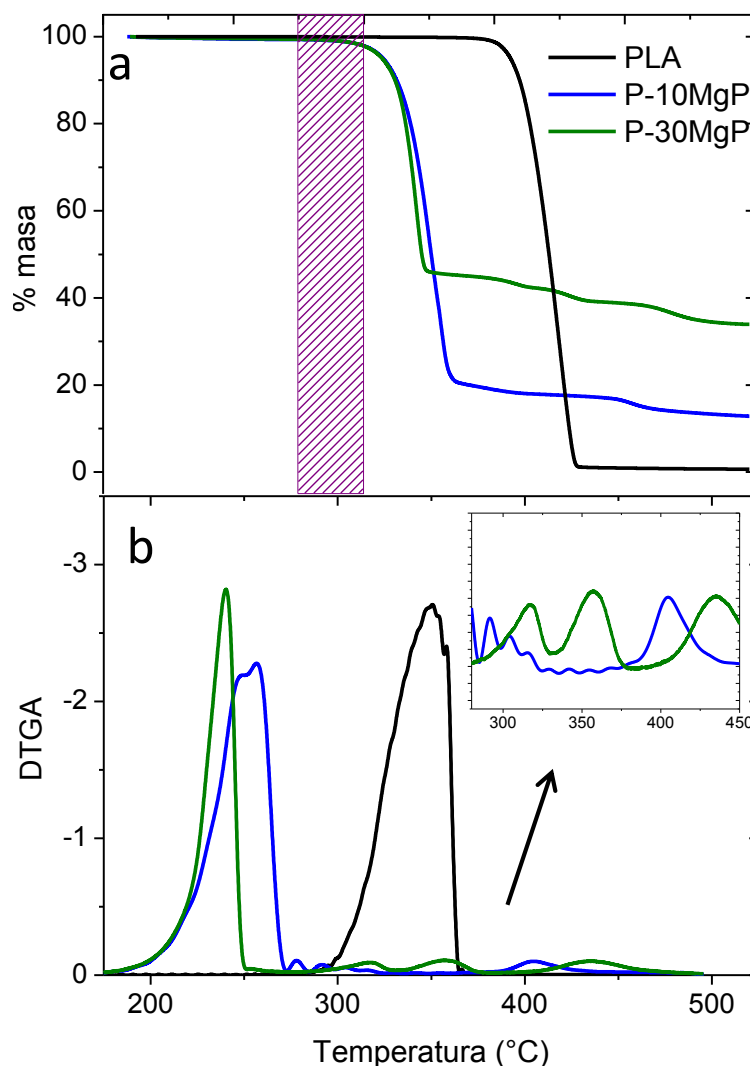


Figura 4.3.4. Termogravimetría de los polvos P-10MgP y P-30MgP comparado con el PLA de partida (a) y su derivada (b).

Del estudio completo del comportamiento térmico de los gránulos de PLA/Mg podemos concluir que, a pesar de la disminución en 100 °C de la temperatura de degradación inicial ( $T_0$ ), el procesamiento térmico de estos compuestos no se ve comprometido. La ventana de procesamiento, definida como la temperatura mínima a la cual el material puede fundirse y moldearse, se encuentra siempre entre la  $T_0$  del material y su respectiva  $T_m$ . En el caso de los gránulos estudiados (Tabla 4.3.1 y Tabla 4.3.2), la  $T_0$  es de 198°C y la  $T_m$  máxima de 155°C. Esto significa que se abre una ventana de procesamiento térmico, resaltada en la Figura 4.3.4a, de los gránulos mezcla PLA/Mg obtenidos mediante procesamiento coloidal, para preparar materiales compuestos con una fracción en volumen de Mg alta, que difícilmente pueden procesarse en un mezclado convencional por fusión en rutas de extrusión [11], debido a la rápida oxidación del Mg y a la actividad catalítica de su óxido sobre la degradación térmica del PLA.

La caracterización térmica de los gránulos de PLA/Mg ha permitido determinar la ventana de procesamiento por fusión de los gránulos mezcla. La Tabla 4.3.3 resume las temperaturas de fusión,  $T_m$ , iniciales de degradación,  $T_0$ , de los gránulos que se procesarán térmicamente, tanto por termoprensado como por impresión 3D. Para determinar la temperatura del termoprensado de los gránulos PLA/Mg, se han considerado la temperatura de fusión,  $T_{m1}$ , derivados del estudio del primer calentamiento (ver Tabla 4.3.1). Estos mismos parámetros se han utilizado para ajustar la temperatura de extrusión del filamento para la impresión 3D por FDM, mientras que los parámetros derivados del segundo calentamiento ( $T_{m2}$ ), se han utilizado para determinar la ventana de procesamiento de la impresión de piezas porosas 3D, que es una temperatura ligeramente menor por tratarse de un segundo calentamiento donde los materiales son amorfos (Capítulo 4.2).

Tabla 4.3.3. Ventana de temperaturas ( $T_m$ - $T_0$ ) para el procesamiento térmico de los gránulos P-10MgP y P-30MgP y del PLA de partida como referencia. Ventana térmica 1 (VT1) para el primer calentamiento y VT2 para el segundo, y porcentajes de cristalinidad ( $X_c$ )

	VT1 (°C)	$X_{c1}$ (%)	VT2 (°C)	$X_{c2}$ (%)
<b>PLA</b>	147-298	3	148-298	0
<b>P-10MgP</b>	153-198	52	148-198	2
<b>P-30MgP</b>	155-198	36	149-198	2

### 4.3.2 Termoprensado de piezas densas PLA/Mg

En función de la ventana térmica 1 establecida para los gránulos en la Tabla 4.3.3, se ha elegido una temperatura intermedia y genérica de termoprensado, igual para todos ellos: 160 °C. Con esta temperatura se asegura la fusión, evitando la degradación del PLA en la preparación de piezas densas tridimensionales en forma de cilindros a partir de la mezcla coloidal. El ciclo térmico consiste en el calentamiento de la muestra a 160 °C, se mantiene durante 15 minutos, posteriormente se aplica una presión de 260 bar seguido de un enfriamiento rápido para obtener un material amorfo.

El material procesado (a partir de la fusión del polímero) no fue sometido a ningún tratamiento térmico posterior que indujera la cristalización de la matriz, por lo que según los parámetros que recoge la Tabla 4.3.1, el grado de cristalinidad de los materiales termopresados debería ser del 2% ( $X_{c2}$ ).

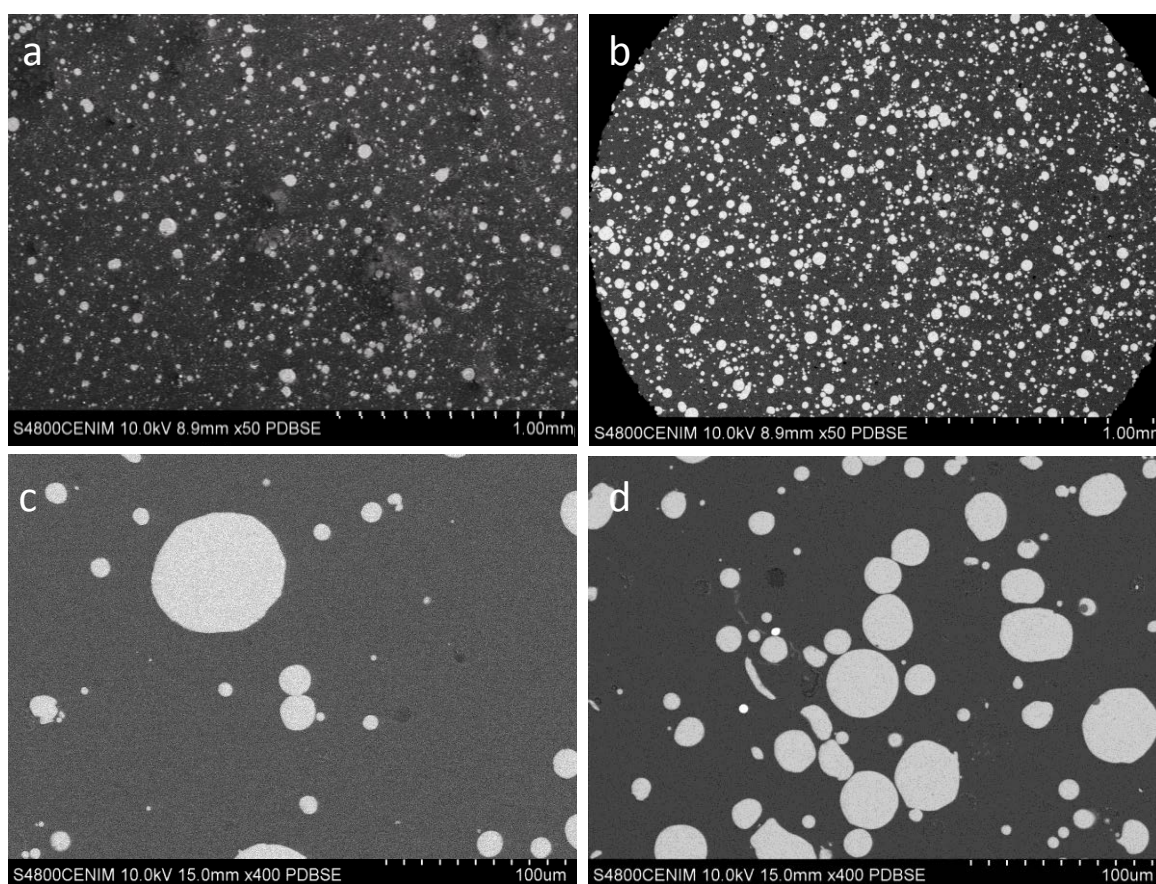


Figura 4.3.5. Micrografía SEM de los cilindros M-10MgP (a y c) y M-30MgP (b y d) a distintos aumentos.

En la Figura 4.3.5 se muestran varias imágenes de microscopía electrónica de barrido de la sección transversal de los cilindros compuestos M-10MgP y M-30MgP, donde se

puede observar la distribución de las partículas de Mg en la matriz continua de PLA. La dispersión de las partículas es homogénea para ambas muestras (Figura 4.3.5a y Figura 4.3.5b), observándose únicamente algún aglomerado en la muestra de mayor contenido de Mg. Por otro lado, las micrografías de las Figura 4.3.5c y Figura 4.3.5d revelan la continuidad de la interfaz polímero-metal, sin que se observe separación entre fases, de forma similar a como ya se vio en las micrografías de los gránulos que se han utilizado para termoprensar. Esto significaría que la interacción estabilizante-matriz, que ya fue analizada anteriormente, bien no se degrada al procesar el material a 160 °C, o bien es una interacción reversible con la temperatura, en la que los puentes de hidrógeno o las interacciones formadas pueden desaparecer al fundir el polímero, pero vuelve a formarse al consolidar el material. Este fenómeno puede deberse a que no se ha superado la temperatura de fusión por lo que observamos un efecto de memoria.

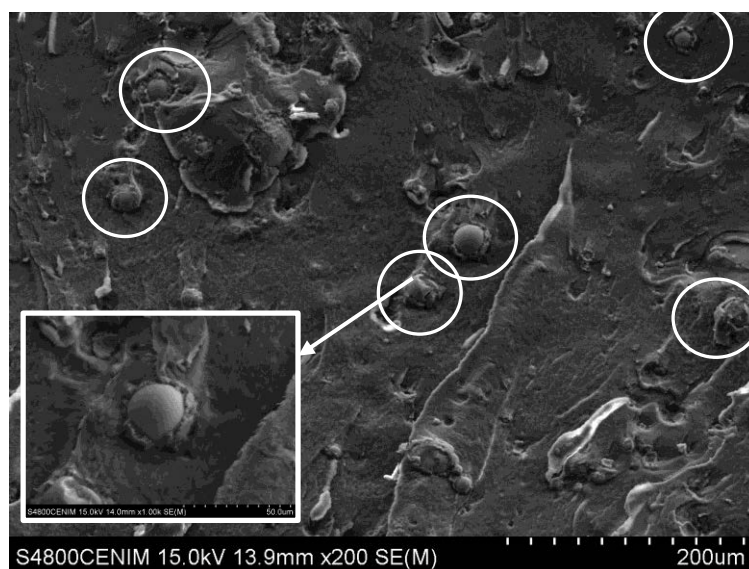


Figura 4.3.6. Microscopía de una probeta M-10MgP después de su ruptura, donde se observa la adhesión de las partículas de Mg a la matriz del PLA.

Las características de esta interfaz y el comportamiento de la unión partícula-matriz quedan de manifiesto en la imagen de la superficie de fractura de un cilindro M-10MgP en la Figura 4.3.6. La micrografía permite observar no solo cómo se distribuyen de forma unitaria las partículas embebidas en la matriz, sino que además las partículas de Mg están rodeadas por una capa de polímero, como se muestra con más detalle en la ampliación de la partícula señalada con la flecha, de modo que, aun estando parcialmente descubiertas, las partículas mantienen gran parte de su recubrimiento polimérico y siguen adheridas a la matriz. Por lo tanto, la fractura del material parece

indicar que hay una buena adherencia polímero-interfaz-partícula. Todo ello refuerza las conclusiones derivadas del estudio térmico y físico-químico de los compuestos: la adsorción de PEI sobre la superficie del Mg no solo propicia su estabilidad química y coloidal, dispersando las partículas en la suspensión primero, y en el material final después (gránulos, cintas y cilindros), sino que además proporciona la formación de una interfaz PLA/Mg, que parece mantenerse después del termoprensado, y que ayuda a mantener las partículas adheridas a la matriz.

Para caracterizar esta interfaz observada en las imágenes de MEB en las probetas cilíndricas, y con el fin de continuar profundizando en la caracterización de la unión PLA-PEI, se analizaron los materiales por FTIR-ATR. En la Figura 4.3.7 se muestran los espectros de M-10MgP y M-30MgP desde 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$  y a modo comparativo el PLA de partida y una probeta de PLA/Mg sin PEI obtenida mediante extrusión (M-10Mgext - su procesamiento se detalla en la parte experimental) para comprobar si las diferencias observadas se deben al polielectrolito (PEI).

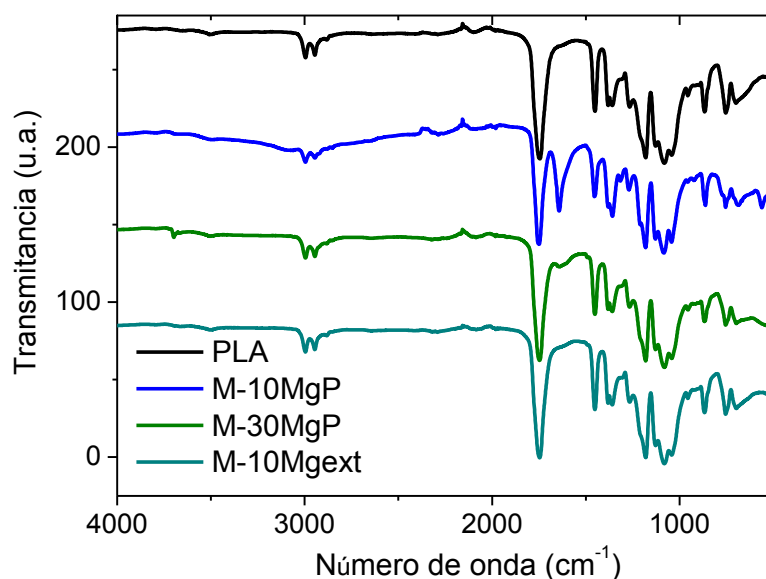


Figura 4.3.7. Espectros infrarrojos para todas las probetas en forma de cilindros M-XPLAP junto con el PLA de partida y una muestra M-10Mgext a modo comparativo desde 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$

El análisis realizado a los espectros de los cilindros fue similar al realizado a los gránulos con los que se procesaron estos materiales, y mediante este estudio se pudo determinar que los cambios observados en el material de partida son similares a los observados en los materiales termopresados. En la Figura 4.3.8a se observa el pico del enlace Mg-OH localizado a 3696  $\text{cm}^{-1}$ , especialmente pronunciado para la muestra M-



30MgP, asociado a la bicapa de degradación del Mg o a la interacción PEI-Mg [2], [3]. Por otro lado, no se observa un desplazamiento hacia menos números de onda de la banda a  $3509\text{ cm}^{-1}$  del enlace C=O del PLA en las muestras coloidales (M-10MgP y M-30MgP), pero sí se observan variaciones en las bandas a  $1266\text{ cm}^{-1}$  y  $867\text{ cm}^{-1}$  (Figura 4.3.8b y c) asociadas a los -OH terminales del grupo ácido. Estas bandas disminuyen su intensidad notablemente en los espectros de los compuestos P-10MgP y P-30MgP con respecto al PLA de partida y al material extruido (M-10Mgext) y en el caso de la banda a  $867\text{ cm}^{-1}$  además se desplaza notablemente hacia menores números de onda. La variación en estas bandas demuestra tanto la disminución de los grupos hidroxilos finales de cadena en los compuestos como la interacción de estos grupos con otras cadenas, en este caso con el PEI [5].

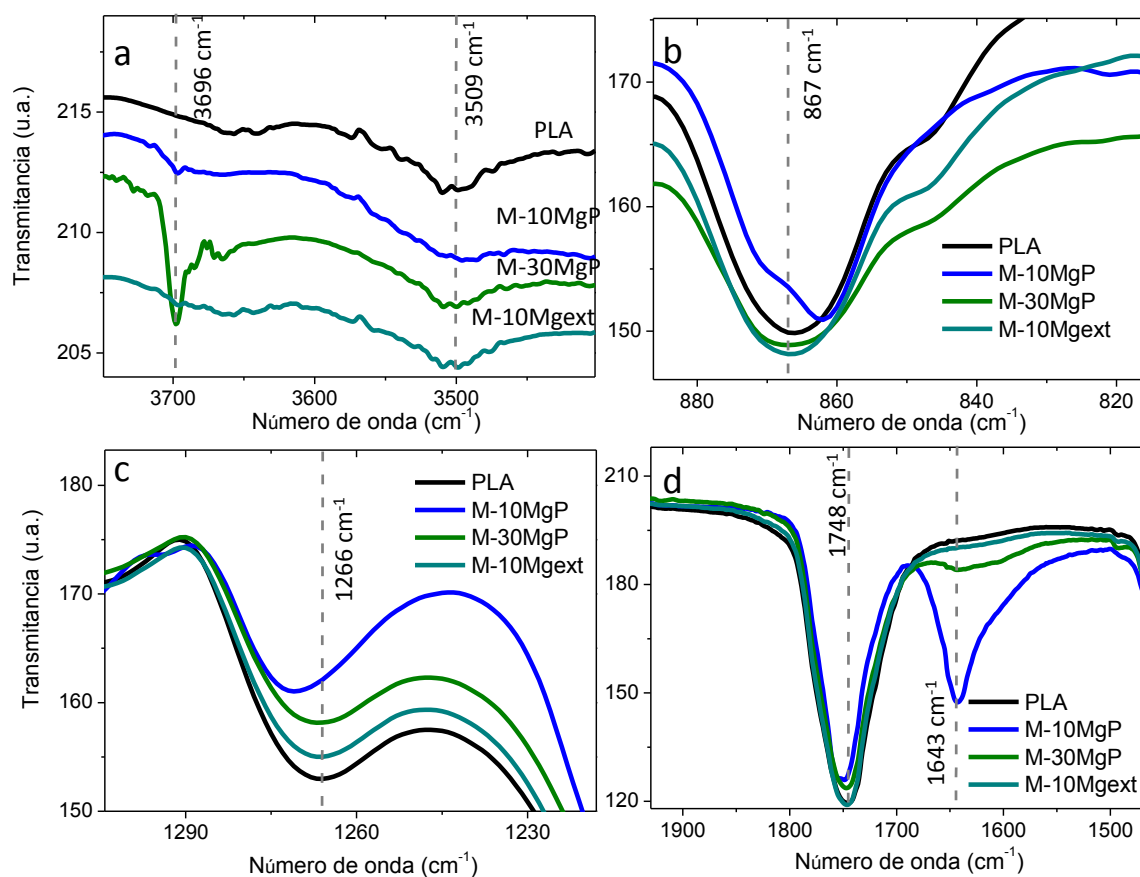


Figura 4.3.8. Picos de los espectros infrarrojos a  $3696\text{ y }3509\text{ cm}^{-1}$  (a) a  $867\text{ cm}^{-1}$  (b) a  $1266\text{ cm}^{-1}$  (c) y a  $1748\text{ y }1640\text{ cm}^{-1}$  (d) de las muestras procesadas M-10MgP y M-30MgP junto con el PLA de partida y la muestra M-10Mgext.

Por último, en la Figura 4.3.8d observamos la banda del enlace carbonilo a  $1748\text{ cm}^{-1}$  que, al igual que en los gránulos, presenta una clara disminución en intensidad para los compuestos obtenidos mediante procesamiento coloidal. La diferencia más significativa

encontrada en estos compuestos por tanto, es en la banda que aparece a  $1643\text{ cm}^{-1}$  característica de grupos amida que se hace mucho más notable después del proceso de termoprensado para obtener los cilindros.

Lü *et al.* [6] observan esta misma reacción cuando elaboran mezclas PLGA (ácido poli(láctico-co-glicólico)), copolímero entre el ácido poliláctico y el ácido poliglicólico, con PEI aunque sus grados de reacción son muy elevados en comparación con los obtenidos para los gránulos e incluso para los materiales termoprensados. Mediante FTIR observan la desaparición de la señal del grupo éster del PLA ( $1748\text{ cm}^{-1}$ ) para las mezclas poliméricas mientras que la banda del enlace amida ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ) la sustituye. Es decir, los autores proponen que se produce la ruptura de la cadena de PLGA debido al ataque nucleófilo de los grupos amina a los grupos cetona o carboxílicos de cadena, como se muestra en la Figura 4.3.9 produciéndose el copolímero LGA-PEI en una reacción sin temperatura.

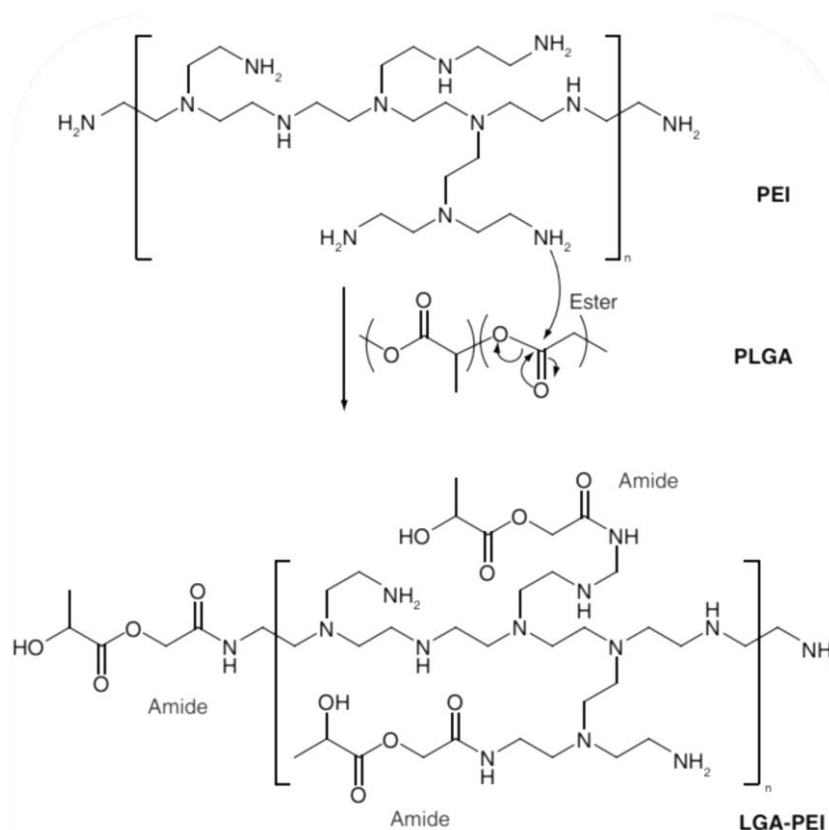


Figura 4.3.9. Mecanismo propuesto de reacción entre el PLGA y el PEI por Lü *et al.* [6]

En nuestro caso no se observa la ruptura notable de las cadenas de PLA, pues la banda principal del grupo CO aparece en todos los compuestos, lo cual podría deberse a la pequeña cantidad de PEI que presentan las muestras o a que la adición del ácido

glicólico como co-monómero del ácido láctico favoreciera la reacción LGA-PEI del apunte bibliográfico.

Salvando las diferencias observadas con respecto al trabajo de Lü *et al.* [6], donde el polímero es ligeramente diferente del PLA (el PLGA tiene un 12-16KDa mientras que el PLA tiene 200KDa y los contenidos de PEI son del 15,7 al 64,7%, mientras que en nuestro caso es un 0,2% con respecto a la carga), es posible que la reacción descrita en la Figura 4.3.9 se dé en los compuestos PLA/Mg que estamos estudiando. Esta reacción podría ocurrir de manera minoritaria al ser el PEI un componente minoritario de la mezcla y estar adsorbido sobre el Mg, por ello en nuestro caso debemos proponer un nuevo mecanismo de reacción entre los dos polímeros PLA y PEI, en el que solo los grupos finales de cadena del PLA están involucrados.

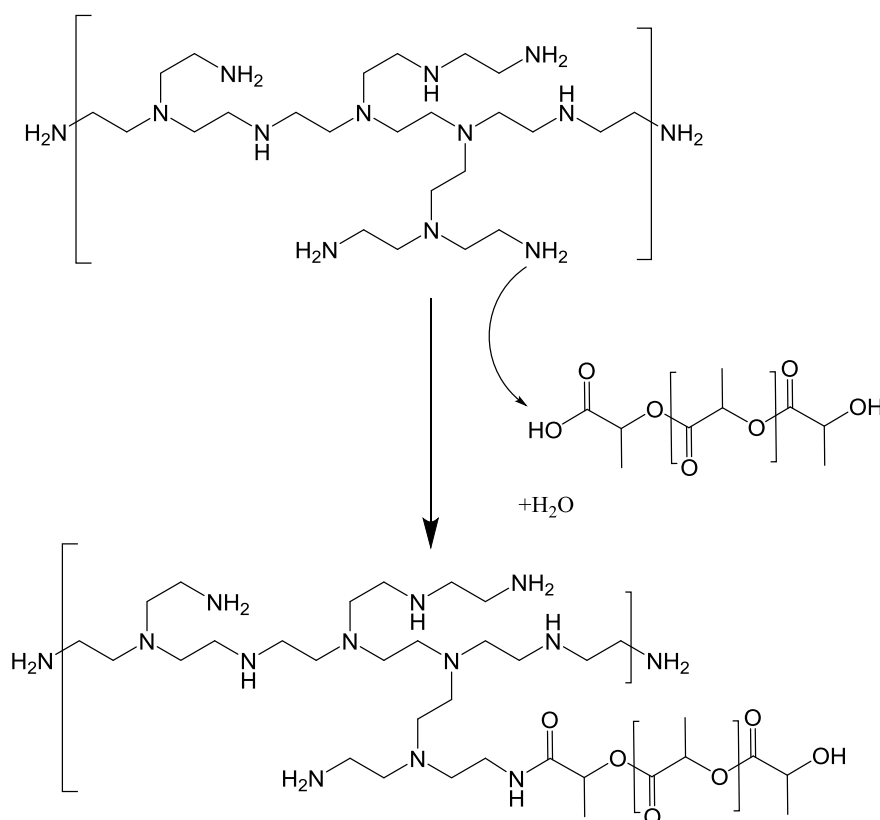


Figura 4.3.10. Mecanismo alternativo propuesto de reacción entre el PLA y el PEI con los grupos finales de cadena

Con el fin de evaluar la interacción PLA-PEI, a modo comparativo se muestra en la Figura 4.3.11 las bandas asociadas a la reacción de ambos polímeros ( $1748\text{ cm}^{-1}$  y  $1643\text{ cm}^{-1}$ ) para los tres compuestos estudiados; cinta C-10MgP, gránulos P-10MgP y cilindro termopresado M-10MgP; con objeto de comparar el grado de reacción

obtenido. En las cintas indicamos anteriormente la existencia de interacciones no covalentes entre el PLA y los dos dispersantes utilizados (PEI y CTAB), para todos los contenidos en Mg estudiados; y de la misma forma observamos en la Figura 4.3.11 que en este material no se forma el enlace amina ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ), es decir el estabilizante no llega a reaccionar con la matriz. Sin embargo, tanto en los gránulos como en los cilindros se observan picos correspondientes al enlace amida ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ), pero sin que se aprecie una disminución proporcional de la banda del éster ( $1748\text{ cm}^{-1}$ ), por lo que se podría deducir que la reacción no ocurre principalmente en ese grupo funcional.

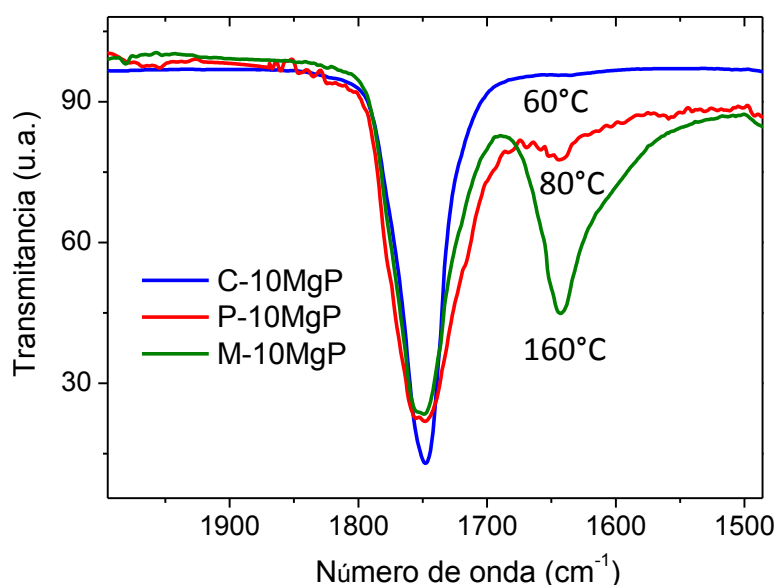


Figura 4.3.11. Comparación de la banda a  $1748\text{ cm}^{-1}$  y  $1643\text{ cm}^{-1}$  para los materiales C-10MgP, P-10MgP y M-10MgP.

En base a los resultados observados se propone que la reacción de formación del grupo amida ocurre con los grupos ácidos carboxílicos de final de cadena, por ello no se observa una disminución tan notable de las bandas características del grupo éster, pero sí de las correspondientes a los OH finales (Figura 4.3.8b y c).

A raíz de las diferencias observadas para cada material, el grado de reacción PLA-PEI podría atribuirse a la temperatura de procesamiento (Figura 4.3.11). Esto explicaría la interacción iónica/electrostática entre el PLA-PEI y la ausencia de un enlace covalente resultante de la amidación, en el caso de las cintas compuestas (secadas a  $60^{\circ}\text{C}$ ), a diferencia de los gránulos que sí presentan un pequeño grado de reacción al secarse a una temperatura mayor ( $80^{\circ}\text{C}$ ) y de los cilindros termoprensados con un alto grado de reacción al ser procesados a  $160^{\circ}\text{C}$ . Los resultados en la Figura 4.3.11 muestran que la

temperatura favorece la reacción entre los dos grupos ácido-amina, que ya mantenían cierta interacción iónica antes de aplicarles temperatura, pero también pueden favorecer la movilidad de las cadenas de PLA permitiendo que los grupos reactivos de final de cadena se aproximen a los grupos reactivos amina del polielectrolito. Este último caso explicaría por qué ha reaccionado considerablemente más el compuesto M-10MgP que el M-30MgP, ya que en el compuesto de menor cantidad de Mg, la viscosidad es menor y la movilidad de las cadenas no está impedida, mientras que al aumentar la carga sí que se ha demostrado que hay un impedimento físico a la movilidad de las cadenas, que puede inhibir o reducir la reacción.

Para un completo estudio de los cilindros termoprensados se ha llevado a cabo su caracterización térmica por DSC. Como en los ensayos anteriores, se realizó un primer barrido (F10-Figura 4.3.12a) para estudiar el material después del ciclo de moldeo y un segundo calentamiento (CR10F10-Figura 4.3.12b) después de haber eliminado el historial térmico del material. Los parámetros obtenidos de los DSC se recogen en la Tabla 4.3.4, junto a la temperatura de transición vítrea,  $T_g$ , la temperatura de cristalización en frío,  $T_{cc}$ , y la temperatura de fusión,  $T_m$ , para los dos calentamientos estudiados. La temperatura de fusión en ocasiones se presenta en dos picos diferenciados,  $T_{m1}$  y  $T_{m2}$ .

Tabla 4.3.4. Parámetros de DSC para las muestras M-PLA, M-10MgP y M-30MgP en su primer y segundo calentamiento.

	F10					CR10F10				
Mg-PEI/PLA	$T_g$	$T_{cc}$	$T_{m1}$	$T_{m2}$	% $X_c$	$T_g$	$T_{cc}$	$T_{m1}$	$T_{m2}$	% $X_c$
M-PLA	58	109	148	-	4	58	125	150	-	1
M-10MgP	58	110	148	152	2	58	127	150	-	1
M-30MgP	58	99	151	162	7	53	130	146	-	1

Para comparar los materiales en el mismo estado térmico, el primer ciclo de calentamiento de los cilindros (F10 en la Tabla 4.3.4) se comparará con el segundo ciclo de calentamiento de los gránulos (CR10F10 en la Tabla 4.3.1), ya que el primer ciclo de calentamiento de los gránulos puede asemejarse de alguna forma al procesamiento por moldeo de los gránulos que se realiza para conformar los cilindros compuestos, a excepción de la presión ejercida (ver método experimental).

Al observar el grado de cristalinidad de los cilindros en el primer calentamiento (2-7%), deducimos que, como era de esperar, son amorfos, ya que como se ha estudiado

anteriormente, el polímero no es capaz de cristalizar desde el fundido. Este aspecto es similar al observado en el CR10F10 de los gránulos (Tabla 4.3.1) que tienen un grado de cristalinidad del 2%.

Otro hecho a resaltar es el envejecimiento que se observa en las calorimetrías de los cilindros, debido a que la medida de DSC se realizó pasado un tiempo específico desde el procesado (mínimo 1 mes), suficiente para que se produzca un movimiento en las cadenas poliméricas. De esta manera, en los cilindros, las cadenas tienen menor libertad de movimiento por el envejecimiento, lo que produce una leve fragilidad en los materiales. Sin embargo, el cambio más significativo se observa en la cristalización en frío. Cuando los gránulos se someten a un ciclo de fundido y enfriamiento controlado (como el segundo calentamiento del análisis del DSC), sus  $T_{cc}$  se presentaron alrededor de 120-125°C (Tabla 4.3.1), mientras que las muestras moldeadas en forma de cilindro tiene una  $T_{cc}$  en torno a 99-110°C en el primer calentamiento (Tabla 4.3.4). Las diferencias en las temperaturas de cristalización podrían deberse al propio proceso de envejecimiento de los cilindros, ya que los materiales almacenados a temperatura ambiente han sufrido un cierto reordenamiento que facilita su posterior cristalización en frío, aunque también se puede asociar a que los gránulos fueron sometidos durante su procesamiento a una presión de 260 bares para conformar los cilindros. Esta presión pudo originar una disminución del volumen libre entre cadenas poliméricas. Este acercamiento facilita la cristalización, una vez el polímero empieza a fundir durante el primer calentamiento (F10), produciendo una disminución en su  $T_{cc}$ , con respecto a las segundas fusiones de los gránulos compuestos.

Las temperaturas de fusión de los cilindros en su primer calentamiento (151-148 °C) (Tabla 4.3.4) son muy similares a las observadas en el ciclo CR10F10 de los gránulos (Tabla 4.3.1). La única anomalía es la presencia de segundos picos de cristalización que solo se observaron anteriormente para los gránulos de P-30MgP. En este caso se presentan para los dos compuestos, tanto de 10% como de 30%, y son debido a procesos de fusión/recristalización de las cadenas poliméricas. El segundo calentamiento, una vez se ha eliminado el historial térmico de los cilindros, se observa en la Figura 4.3.12b y los parámetros térmicos de las muestras M-PLA, M-10MgP, M30MgP en la Tabla 4.3.4. Los parámetros son muy similares a los del primer ciclo de calentamiento, y por tanto a los del segundo calentamiento de los gránulos. La principal variación se centra sobre la  $T_{cc}$ , que una vez se ha eliminado el efecto de la presión y el envejecimiento,

aumenta hasta los 125-130°C. Sin embargo, los cilindros con un contenido del 30% (M-30MgP) también muestran ciertas diferencias, tanto en la  $T_g$  como la  $T_m$ , que se presentan a más bajas temperaturas, lo que podría significar que hay cierto grado de degradación que origina una leve disminución del peso molecular de las cadenas poliméricas asociado a la reacción producida con el PEI.

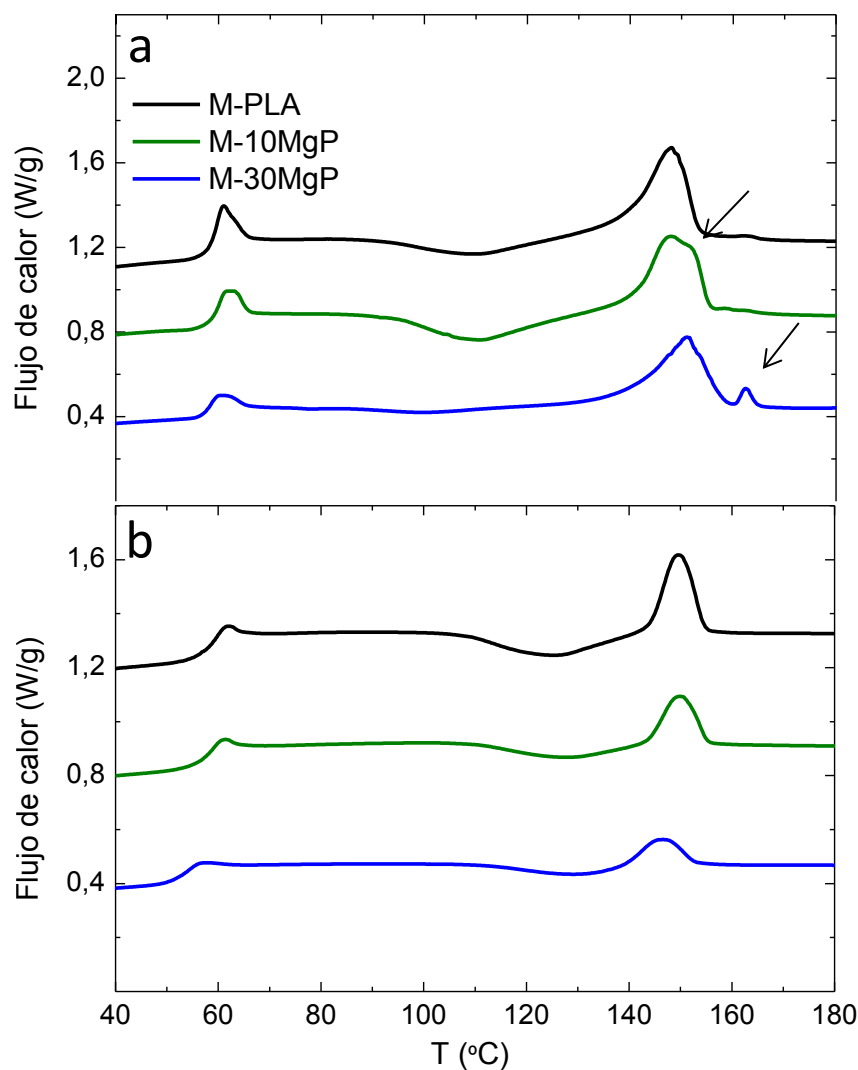


Figura 4.3.12. Calorimetría diferencial de barrido para las muestras M-PLA, M-10MgP y M-30MgP en su primer (a) y segundo calentamiento (b)

### 4.3.3 Impresión tridimensional de andamios PLA/Mg

Una vez se llevaron a cabo el procesado y estudio de los termoprensados, se ha realizado la impresión de piezas porosas (*scaffolds*) compuestos PLA/Mg. Para ello, en primer lugar se obtuvieron filamentos utilizando una extrusora para posteriormente utilizarse como material de alimentación de una impresora 3D (FDM).

Como ya se detalló en la Tabla 4.3.3, se han definido dos ventanas de procesado, que en el caso de materiales porosos, la primera se utiliza para la extrusión y la segunda para la impresión. En cuanto a la extrusión, la ventana de procesado se sitúa entre 155-200 °C, por lo que se procedió a utilizar diferentes temperaturas hasta obtener un hilo con la textura y densidad adecuada.

Con el objetivo de producir filamentos de material compuesto fue necesario diseñar un prototipo de extrusora adaptado a las necesidades específicas que presenta el material. El husillo y el motor fueron diseñados con el objetivo de someter al material a la mínima presión, y reducir al mínimo el tiempo de calentamiento, de manera que se reduzca la capacidad de degradar el material polimérico o incluso modificar la forma esférica de las partículas de Mg. Para ello se optó por aplicar la temperatura directamente sobre el cabezal de extrusión y reducir la longitud del extrusor a 16 cm de manera que se reduzca el tiempo al que el material se ve sometido a condiciones que favorecen su degradación. Todas estas modificaciones fueron posibles, y no empeoraron el mezclado del compuesto, gracias a la homogenización previa de la mezcla detallada en el capítulo 4.1 mediante el premezclado del PLA y el Mg modificado por vía coloidal.

El proceso de extrusión se realiza a velocidad constante a través de una boquilla de 2,85 mm, obteniéndose filamento de aproximadamente  $2,5 \pm 0,1$  mm teniendo en cuenta la contracción del polímero. Tras la boquilla se sitúa el sistema de refrigeración, que reduce la temperatura del material extruido por debajo de  $T_g$  e impide que fluya y se deforme.

En la Figura 4.3.13 se muestran tres filamentos procesados a tres temperaturas diferentes a modo de ejemplo, mientras en la Figura 4.3.14 se observa el corte transversal de los tres ejemplos de filamentos procesados, para poder seleccionar el más adecuado. Se observa que el filamento procesado a más baja temperatura tiene las



mejores características morfológicas, ya que casi no presenta porosidad externa ni interna, y a la vez es dimensionalmente estable. Por otro lado, la carga está perfectamente dispersa por todo el diámetro del hilo, lo cual facilitará a su vez la buena dispersión de la carga en los materiales finales.

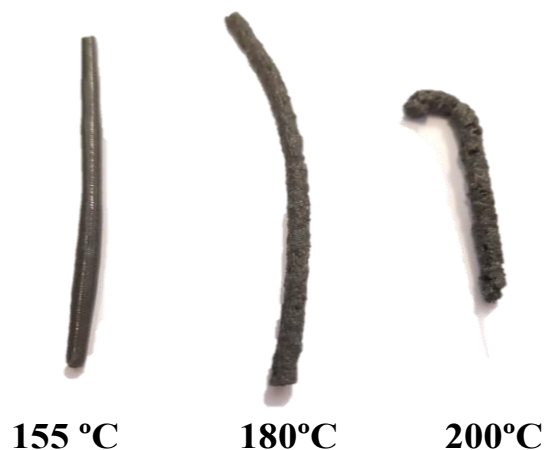


Figura 4.3.13. Filamentos de PLA/Mg con un 10% de Mg extruidos a diferentes temperaturas.

Sin embargo, conforme aumenta la temperatura de extrusión a 180 °C (Figura 4.3.14b), ya sea por la propia degradación del polímero o por sus características viscoelásticas, se empieza a observar claramente porosidad cerrada en la estructura y una alta rugosidad superficial. Al aumentar aún más la temperatura hasta los 200°C (Figura 4.3.14c), la fragilidad del hilo aumenta notablemente así como su porosidad, lo que hace imposible su utilización como material de alimentación de la impresora 3D por su falta de homogeneidad.

Por lo tanto, en base a este análisis visual de los filamentos, se seleccionó la temperatura de 155 °C como la óptima para el procesamiento de filamentos de PLA/Mg con un contenido del 10% de Mg en masa, por ser la temperatura más baja a la cual el material es capaz de fluir manteniendo un comportamiento plástico, y con ello mantener un diámetro estable.

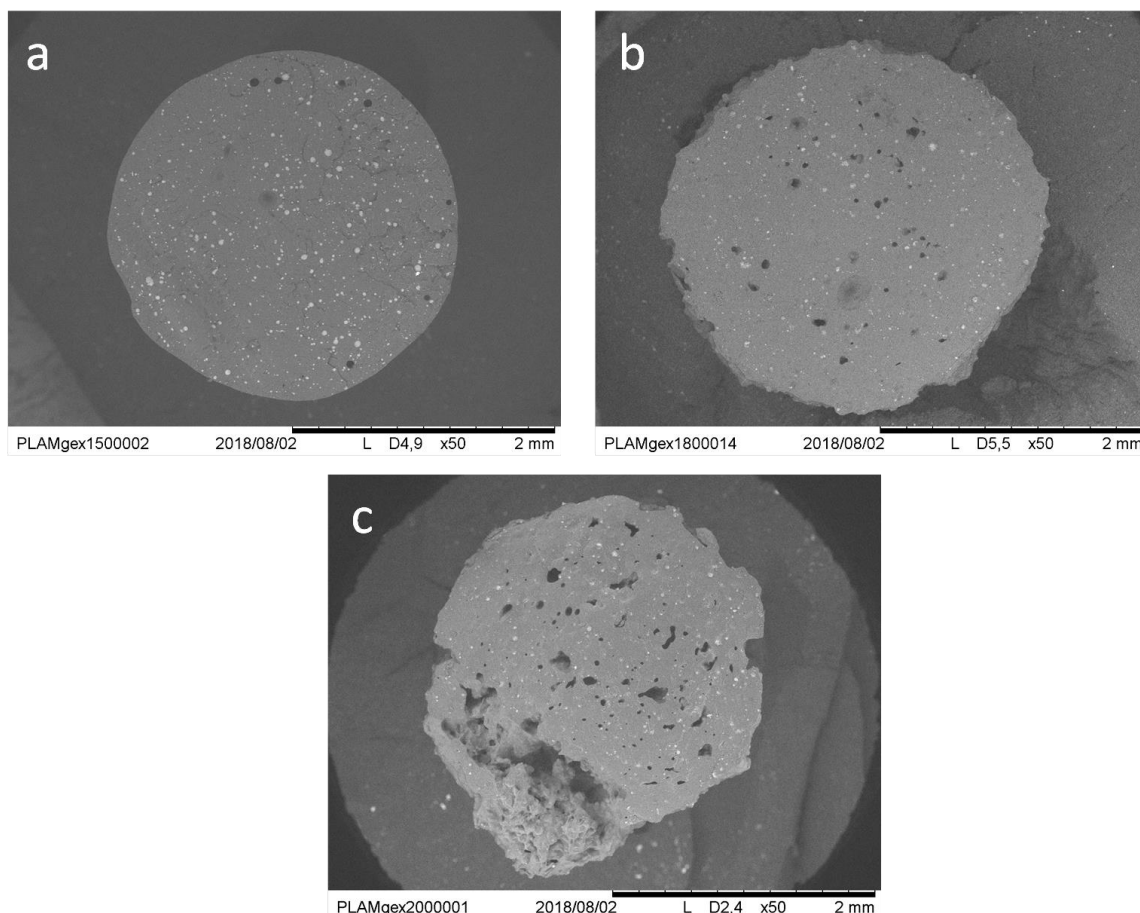


Figura 4.3.14. Corte transversal de filamentos de PLA/Mg con un 10% de Mg extruidos a diferentes temperaturas, 155 °C (a), 180 °C (b) y 200 °C (c).

Una vez se seleccionó la temperatura óptima de procesado, se estudió una posibilidad de mejorar el material obtenido mediante la disminución de su fragilidad. Como se observó en la Tabla 4.3.1, en el segundo calentamiento (CR10F10), el material tiende a disminuir su movilidad de cadena, es decir su temperatura vítrea conforme aumenta la cantidad de carga en la matriz. Por ello, se desarrolló la opción de añadir un plastificante a la matriz, un componente también polimérico que disminuya la  $T_g$  del PLA, sin variar sus características biocompatibles y biodegradables, y que a su vez sea miscible con el mismo. Por todo ello, se seleccionó el polietilenglicol (PEG) como plastificante al ser uno de los agentes más comunes y más efectivos [12], concretamente el PEG400 ( $M_w = 400$  g/mol) ya que es el que presenta la transición vítrea a menor temperatura y mejora las propiedades con la menor cantidad (con 5% en masa con respecto a la matriz ya se observa una mejora significativa [13]).

Cabe destacar que aunque este polímero es biocompatible y biodegradable, y aunque se vaya a añadir en una proporción muy baja (5%), como trabajo futuro se propone el

estudio tanto de la biocompatibilidad de estos nuevos compuestos, como de su degradación *in vitro*.

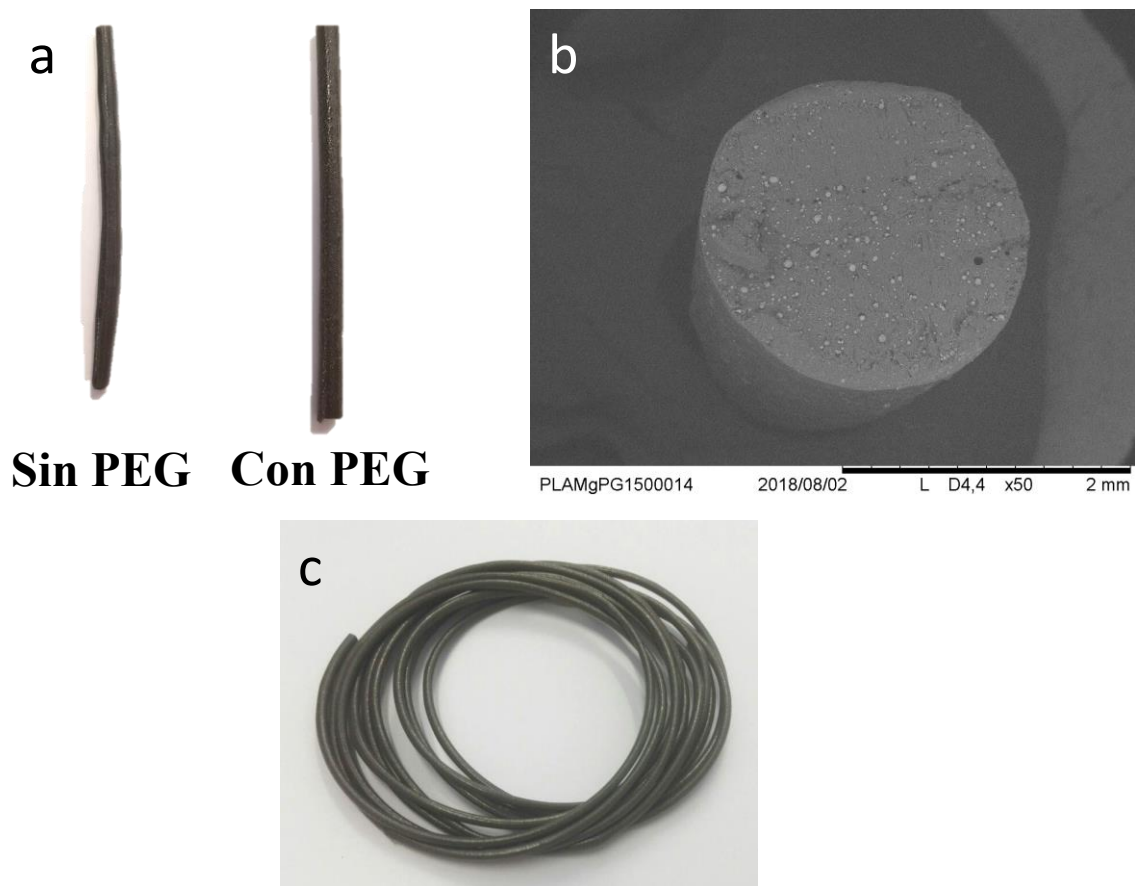


Figura 4.3.15. Comparativa de un filamento de PLA con un 10% Mg extruído a 155 °C y un filamento similar pero con un contenido de 5% de PEG con respecto al polímero extruído a 150 °C. (a) Micrografía de un corte transversal del filamento procesado con PEG (b) Filamento del compuesto con PEG hilado debido a su plasticidad.

En la Figura 4.3.15a se muestra al lado de un filamento con un 10% de Mg en masa, otro con el mismo contenido de carga pero al cual se le ha añadido un 5% en masa con respecto al PLA de plastificante (PEG). Se observa una mejora en la homogeneidad del diámetro del filamento lo que facilitará su futuro uso en la impresión. Este filamento fue extruído a una temperatura ligeramente más baja que para el caso del material no plastificado, a 150 °C, suficiente para conseguir dar forma al compuesto. En el caso de la micrografía de su corte transversal, observado en la Figura 4.3.15b, no se ven diferencias significativas con respecto al material no plastificado, pues no se observan porosidad cerrada ni rugosidad superficial. Donde sí se encuentra una gran ventaja con el uso del PEG, es que este hilo es flexible y puede enrollarse, de manera que se mejora su almacenaje y su posterior uso en la impresión.

Mediante el uso del plastificante se ha podido aumentar el contenido en sólido del filamento polimérico hasta un 30% en masa del Mg, como se observa en Figura 4.3.16. Al aumentar la carga de Mg en el compuesto, se tiene una pérdida considerable de la plasticidad del filamento (Figura 4.3.16a) y un aumento de la porosidad cerrada dentro del filamento y de la rugosidad superficial (Figura 4.3.16b). Por ello, se propone como trabajo futuro ajustar el contenido en plastificante a la cantidad de carga del compuesto, para facilitar la posterior obtención de hilo y materiales tridimensionales.

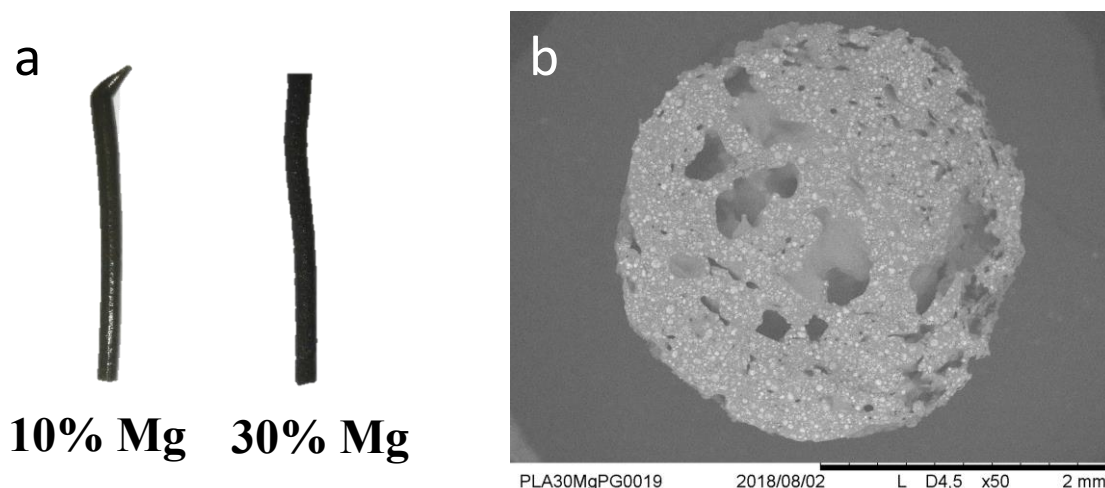


Figura 4.3.16. Comparación de filamentos con un 5% de plastificante y un contenido de 10 y 30% de Mg (a), y micrografía del corte transversal del 30% (b).

Una vez se obtuvieron los filamentos, se llevó a cabo la impresión de los materiales porosos. Se realizaron algunas modificaciones del equipo de FDM que permitieran imprimir piezas con altos contenidos en carga inorgánica. Se mejoró el sistema de refrigeración a la salida de la boquilla, cambiando el ventilador de serie, y se empleó un tubo de teflón, PTFE, para facilitar la alimentación del filamento al extrusor, de manera que las pequeñas variaciones en el diámetro del filamento llegaran a ser despreciables.

La boquilla de entrada presenta un diámetro similar al de la salida de la extrusora, entre 2,7 y 2,8 cm, mientras que el de salida presenta un diámetro de 0,3 mm. La temperatura de impresión depende de cada tipo de material, aunque se ha fijado la velocidad de alimentación en 35 mm/s, con un radio de impresión de 1,1, de manera que se alimente material ligeramente más rápido que se imprima. De este modo se han evitado los problemas asociados con la posible porosidad que presentan ciertos filamentos.

En la Figura 4.3.17 se muestran las micrografías de la superficie de los andamios o *scaffolds* de 10% de Mg. En la Figura 4.3.17a se muestra la cara en contacto con el

soporte de los materiales sin plastificante donde se puede observar el mallado, que tiene muy baja porosidad superficial aunque presenta ciertos errores que no se observan en el andamio que contiene PEG (Figura 4.3.17b). Se ha determinado el diámetro de las barras del mallado, que se halla entre un  $0,34 \pm 0,05$  mm de espesor. En las Figura 4.3.17c y d se muestra la primera cara que se imprimió, es decir, el hilo depositado sobre el plato. La que no contiene plastificante mantiene un diámetro similar a las siguientes capas de  $0,40 \pm 0,05$  mm, pero el uso de plastificante disminuye la viscosidad del fundido haciendo que se deposite y se comprima verticalmente dando un espesor de  $0.54 \pm 0,05$  mm de la primer capa.

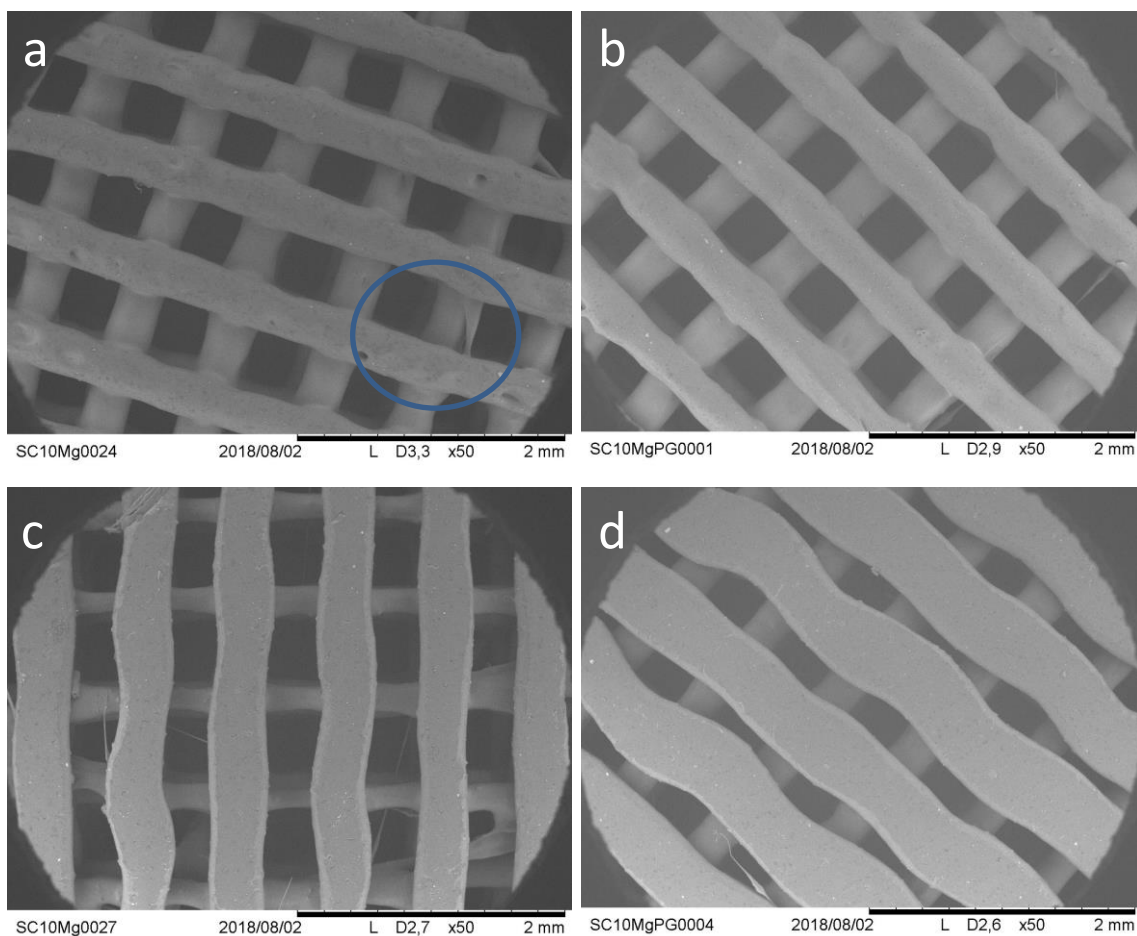


Figura 4.3.17. Micrografía de los *scaffolds* de 10% de Mg sin plastificante por la cara no expuesta (a) y la depositada en la superficie (c) y con plastificante por la cara no expuesta (b) y la depositada en la superficie (d)

Por último, se evaluaron los andamios después de su ruptura natural transversal. En la Figura 4.3.18a y b se observa que la pieza sin plastificante presenta muchos más defectos, donde el más significativo es la pérdida de una parte de la primera capa de impresión. Esto se asocia a una baja adhesión intercapa que produce la delaminación del

material al someterlo a un a un esfuerzo de compresión diametral. La pieza procesada con un 5% en masa de PEG presenta mejores propiedades y se observa una mejor adhesión o soldadura entre las capas. Estos resultados muestran que el ratio plastificante/carga inorgánica (PEG/Mg) en la formulación resulta un parámetro clave, no solo para la preparación del hilo, sino también para mejorar la consistencia de la estructura tridimensional impresa, por lo que como trabajo futuro, se incidirá en el estudio de estos parámetros, utilizando los ensayos de compresión diametral como técnica de caracterización de la adhesión entre capas.

Finalmente, en las Figura 4.3.18c, d, e y f se observa el corte transversal aumentado, donde la diferencia más significativa, entre el uso de PEG o no, es la mayor porosidad de los andamios obtenidos sin PEG. Este fenómeno se asocia de nuevo a la mayor viscosidad del compuesto sin plastificante, que puede almacenar burbujas de aire durante el procesado produciendo las cavidades que se muestran en la Figura 4.3.18c y e. Además, atendiendo a la morfología de los poros observados en las muestras fabricadas con PEG, estos parecen deberse al desprendimiento de las partículas de Mg al romper el andamio, más que a la formación de burbujas de aire durante la extrusión y/o impresión.

Concluyendo, aun manteniendo fijos los parámetros de extrusión e impresión (velocidades, temperaturas y diámetros de las boquillas de entrada y salida), son varios los parámetros relativos a la formulación del compuesto que deben ser ajustados, tanto para la extrusión como la impresión. Entre ellos resulta determinante la plasticidad del material compuesto, y por tanto el ratio plastificante/carga inorgánica del material final. Una correcta caracterización térmica facilitará la elección de las temperaturas más adecuadas, aunque los parámetros de los equipos pueden variar dependiendo de la viscosidad en fundido del material.

En este capítulo únicamente se ha intentado mostrar los primeros resultados que se han obtenido en términos de impresión 3D para los materiales estudiados durante la tesis doctoral, y mostrar que el premezclado mediante la ruta expuesta en el capítulo 4.1 es necesaria, ya que permite el correcto funcionamiento de los equipos utilizados. El desarrollo de esta ruta de procesado, y de la impresión de estos materiales y de otros muchos materiales compuestos, ha sido recogido en la patente registrada con N° 201830503 enmarcada en esta tesis doctoral.

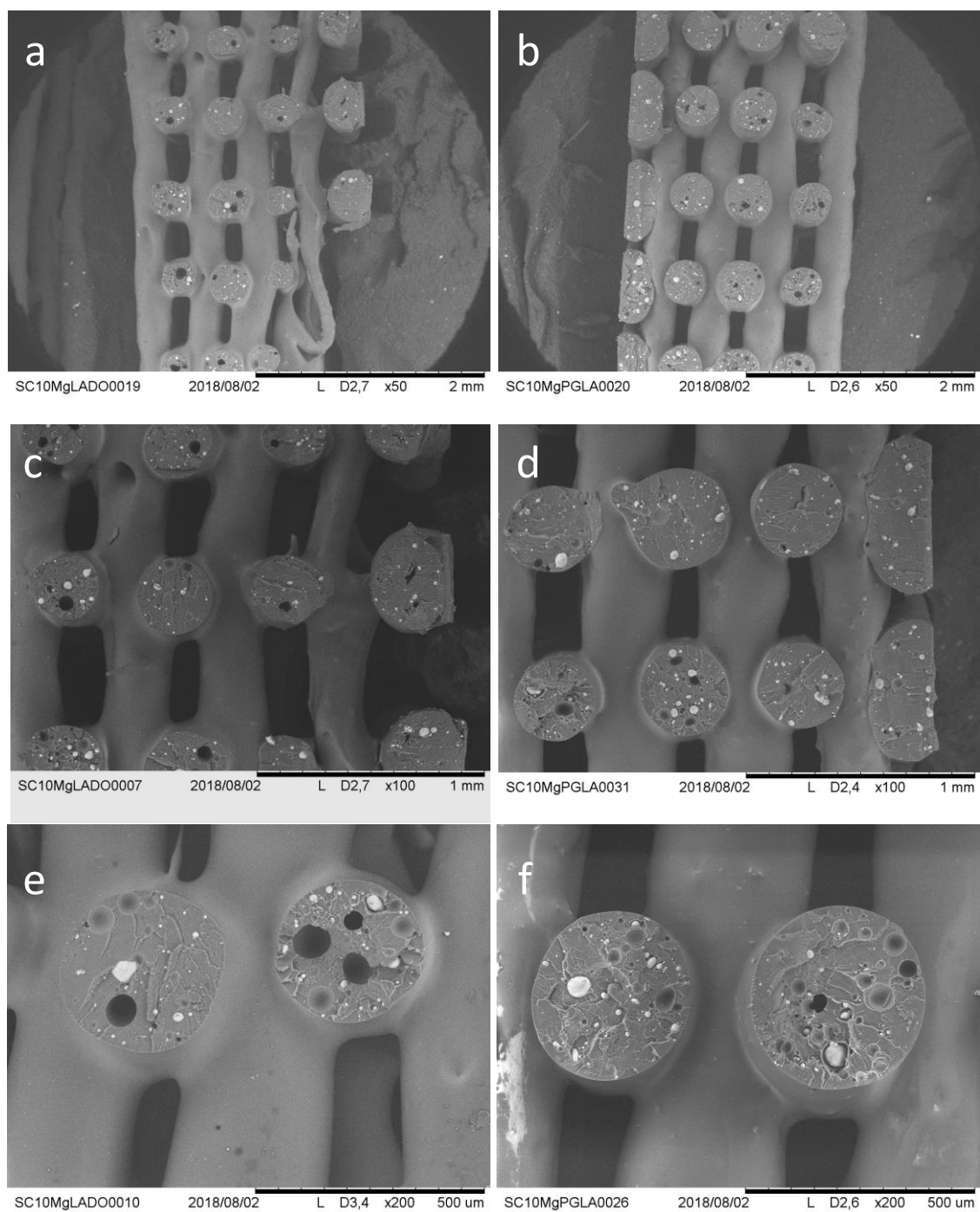


Figura 4.3.18. Micrografías del corte transversal de andamios con un 10% de Mg sin PEG (a, c, e) y con PEG (b, d, f).



## Bibliografía

- [1] C. A. Rodrigues, A. Tofanello, I. L. Nantes, and D. S. Rosa, “Biological Oxidative Mechanisms for Degradation of Poly(lactic acid) Blended with Thermoplastic Starch,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 3, no. 11, pp. 2756–2766, 2015.
- [2] M. Taheri, R. C. Phillips, J. R. Kish, and G. A. Botton, “Analysis of the surface film formed on Mg by exposure to water using a FIB cross-section and STEM-EDS,” *Corros. Sci.*, vol. 59, pp. 222–228, 2012.
- [3] M. Guo, F. Muhammad, A. Wang, W. Qi, N. Wang, Y. Guo, Y. Wei, and G. Zhu, “Magnesium hydroxide nanoplates: A pH-responsive platform for hydrophobic anticancer drug delivery,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 1, no. 39, pp. 5273–5278, 2013.
- [4] J. O. Akindoyo, M. D. H. Beg, S. Ghazali, H. P. Heim, and M. Feldmann, “Effects of surface modification on dispersion, mechanical, thermal and dynamic mechanical properties of injection molded PLA-hydroxyapatite composites,” *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 103, pp. 96–105, Dec. 2017.
- [5] S. Wang, J. Zhang, Y. Wang, and M. Chen, “Hyaluronic acid-coated PEI-PLGA nanoparticles mediated co-delivery of doxorubicin and miR-542-3p for triple negative breast cancer therapy,” *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 12, no. 2, pp. 411–420, 2016.
- [6] J.-M. Lü, Z. Liang, X. Wang, J. Gu, Q. Yao, and C. Chen, “New polymer of lactic-co-glycolic acid-modified polyethylenimine for nucleic acid delivery,” *Nanomedicine*, vol. 11, no. 15, pp. 1971–1991, 2016.
- [7] P. Pan and Y. Inoue, “Polymorphism and isomorphism in biodegradable polyesters,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 34, no. 7, pp. 605–640, 2009.
- [8] S. C. Cifuentes, E. Frutos, R. Benavente, V. Lorenzo, and J. L. González-Carrasco, “Assessment of mechanical behavior of PLA composites reinforced with Mg micro-particles through depth-sensing indentations analysis,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 65, no. July 2016, pp. 781–790, 2017.
- [9] T. Motoyama, T. Tsukegi, Y. Shirai, H. Nishida, and T. Endo, “Effects of MgO catalyst on depolymerization of poly-L-lactic acid to L,L-lactide,” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 92, no. 7, pp. 1350–1358, 2007.
- [10] A. Ansari, A. Ali, M. Asif, and Shamsuzzaman, “Microwave-assisted MgO NP catalyzed one-pot multicomponent synthesis of polysubstituted steroidal pyridines,” *New J. Chem.*, vol. 42, no. 1, pp. 184–197, 2018.
- [11] S. C. Cifuentes, J. L. González-carrasco, and R. Benavente, “Processing and characterization of novel biodegradable and bioresorbable PLA/Mg composites for osteosynthesis,” Universidad Carlos III, Madrid, 2015.
- [12] S. Farah, D. G. Anderson, and R. Langer, “Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 107, pp. 367–392, Dec. 2016.
- [13] M. Baiardo, G. Frisoni, M. Scandola, M. Rimelen, D. Lips, K. Ruffieux, and E. Wintermantel, “Thermal and mechanical properties of plasticized poly(L-lactic acid),” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 90, no. 7, pp. 1731–1738, Sep. 2003.



#### 4.4 Propiedades mecánicas y caracterización *in vitro* de los materiales PLA/Mg

En el capítulo 4.1 se ha descrito el preprocesado de dos de los materiales de partida: PLA/Mg mezclado en vía húmeda para la obtención de gránulos y cintas. Las cintas compuestas se caracterizaron físico-químicamente en el capítulo 4.2 y los cilindros de los gránulos obtenidos por termoprosado en el capítulo 4.3. Estos materiales han demostrado tener buenas propiedades en cuanto a dispersión de la carga en la matriz, además de poseer una interfaz definida entre el PLA y el Mg favorecida por la interacción o reacción de los dispersantes utilizados, en mayor medida con PEI, con la matriz y la partícula. Además de ello, se ha reducido la degradación térmica y química tanto del PLA como del Mg, durante el procesado, y se ha conseguido aumentar la carga de los compuestos hasta un 50% en masa en el caso de las cintas y mejorar la dispersión del Mg en los materiales termoprensados de 10% y 30% de Mg [1].

En este capítulo se van a evaluar las propiedades mecánicas y el comportamiento *in vitro* de las cintas y termoprensados. La caracterización mecánica se realizó mediante ensayos de tracción en las cintas y compresión en los termoprensados. Además, para una mejor evaluación de la interfaz partícula-matriz, en las cintas se realizaron ensayos de nanodureza. Al no haber estado sometidas a temperatura durante su procesado, esto permitirá analizar la intercara sin modificaciones debidas tratamientos termomecánicos.

En cuanto a la caracterización *in vitro*, en primer lugar se llevó a cabo los ensayos de degradación mediante la inmersión en un medio simulado (PBS) tanto de las cintas como de los cilindros. Se ha evaluado la cantidad de hidrógeno liberado por superficie ( $\text{cm}^2$ ), la pérdida de peso de las probetas, su microestructura, la evolución de su composición mediante imágenes MEB y análisis elemental mediante microanálisis por dispersión de energías de rayos X (EDX), y los cambios originados en el polímero mediante su caracterización térmica (DSC). Por último, se evaluó la viabilidad celular de estos compuestos con ensayos directos e indirectos, tanto con fibroblastos (MEF) como con células estromales (ST-2).

### 4.4.1 Cintas PLA/Mg

#### 4.4.1.1 Propiedades mecánicas de las cintas de PLA/Mg

Las propiedades mecánicas de las cintas y de la interfaz se caracterizaron mediante nanoindentación y ensayos mecanodinámicos.

Para caracterizar la interfaz se seleccionó un nanoindentador y una carga, de 1 mN, con el fin de obtener huellas de 2-3  $\mu\text{m}$  y poder evaluar el gradiente de propiedades mecánicas de la matriz en función de la distancia a las partículas. Se obtuvieron curvas de carga-descarga frente a la profundidad de la penetración como la mostrada en la Figura 4.4.1a modo de ejemplo, correspondiente a los materiales C-PLA, C-10MgP, C-50MgP y C-10MgC.

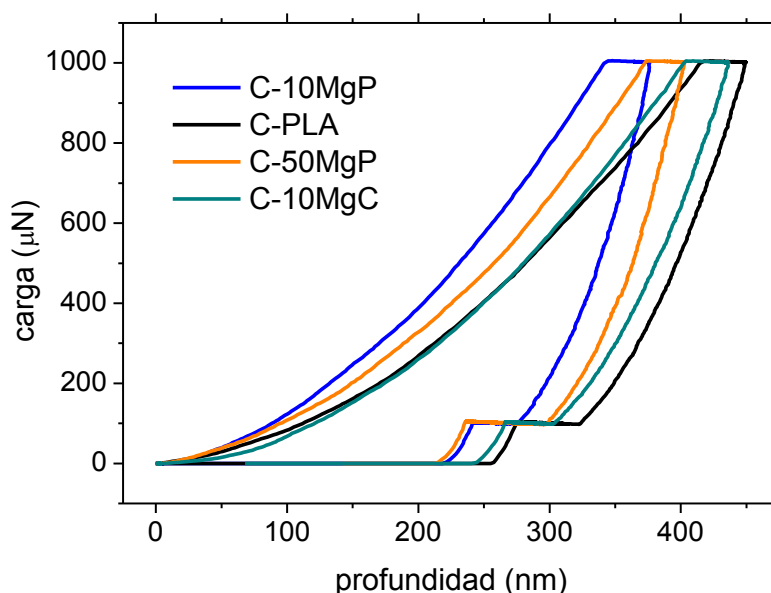


Figura 4.4.1. Curvas carga-descarga representativas para las muestras C-PLA, C-10MgP, C-50MgP y C-10MgC.

Las huellas se realizaron a lo largo de las cintas embutidas, como se observa en las imágenes del AFM acoplado al nanoindentador (Figura 4.4.2). En la Figura 4.4.2 se muestra un ejemplo representativo de cada material analizado, donde pueden diferenciarse las cintas de la resina epoxi en la que se han embutido, las partículas de Mg y las huellas. Las huellas se distribuyen aleatoriamente por la superficie del corte de las cintas con una distancia a las partículas desde 2  $\mu\text{m}$  hasta 30  $\mu\text{m}$ .

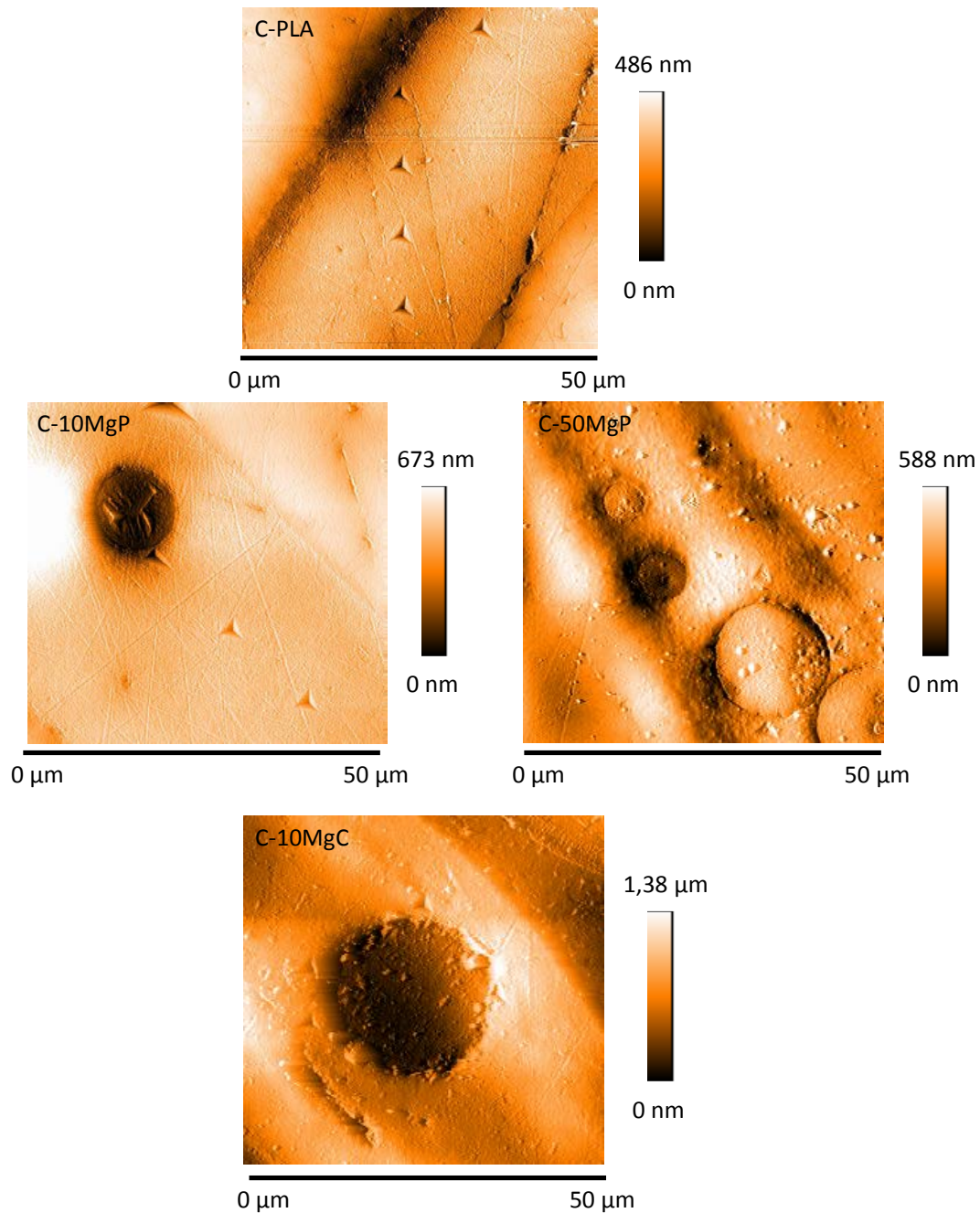


Figura 4.4.2. Topografía AFM del corte transversal de las cintas C-PLA, C-10MgP, C-50MgP y C-10MgC

Las indentaciones o huellas se identificaron según su distancia a la partícula y con los datos obtenidos experimentalmente (curvas carga frente a penetración) se determinaron los valores de la dureza y el módulo elástico mediante el método Oliver-Pharr, descrito en la parte experimental. En la Figura 4.4.3 se muestran las durezas y los módulos frente a la distancia a la superficie de las partículas para las cintas C-10MgP, C-50MgP y C-10MgC. Las muestras C-10MgP presentan un aumento claro de las propiedades mecánicas conforme la distancia a la partícula disminuye, con un aumento de dureza de

60MPa y de módulo de 2,9 GPa. Los valores evolucionan homogéneamente, a diferencia de la elevada dispersión de los datos obtenidos para la cinta C-50MgP, que siguen mostrando la misma tendencia que la C-10MgP. El aumento de la dispersión de datos se asocia a la mayor cantidad de Mg, que aumenta la probabilidad de que una huella, asociada a la distancia a una partícula determinada, se distorsione por la cercanía a otra partícula dispuesta en otro plano. En este caso, el incremento de la dureza es de 70 MPa y el del módulo de 4,4 GPa, mayor que en las cintas con 10% de Mg.

En la cinta C-10MgC, a diferencia de lo que ocurre con las cintas procesadas con PEI, el aumento en la dureza conforme disminuye la distancia a la partícula es menor, de 29 MPa, en el caso del módulo este aumento es de 2 GPa, igual al de la cinta C-10MgP.

Varios autores han utilizado esta metodología para evaluar la interfaz refuerzo-matriz en el caso de compuestos de base polimérica con refuerzos, tanto de escala micro como nanométrica [2]–[4]. Por ejemplo, Hodzic *et al.* [4], [5] evalúan la interfaz de tres compuestos donde, en todos los casos, observan una mejora de las propiedades mecánicas de la interfaz con respecto a la matriz. También estipulan que esta mejora no es debida a la cercanía de la medida con respecto a la carga inorgánica, ya que si fuera así, no observarían resultados diferentes para las diferentes interfaces. En el caso de las cintas compuestas observamos que únicamente variando el dispersante utilizado para estabilizar el Mg, los valores de dureza y módulo elástico varían significativamente, por lo que asociamos la mejora en las propiedades mecánicas de la interfaz principalmente a una buena unión matriz-refuerzo.

En efecto, las muestras que contienen PEI (Figura 4.4.3a y b) presentan una diferencia en sus propiedades mucho más significativa en comparación con la muestra de CTAB (Figura 4.4.3c). Estos resultados estarían en consonancia con los obtenidos anteriormente, confirmando la mayor interacción del PEI-PLA frente a la menor afinidad del CTAB. Para los compuestos con PEI, la distancia de 5  $\mu\text{m}$  a la partícula es donde se estabiliza la dureza, por lo que se podría concluir que la interfaz partícula-matriz tiene un radio de influencia de 5  $\mu\text{m}$  desde la partícula. En el caso de la muestra C-10MgC no pudo determinarse un valor crítico, ya que la variación de las propiedades mecánicas no es tan acusada.

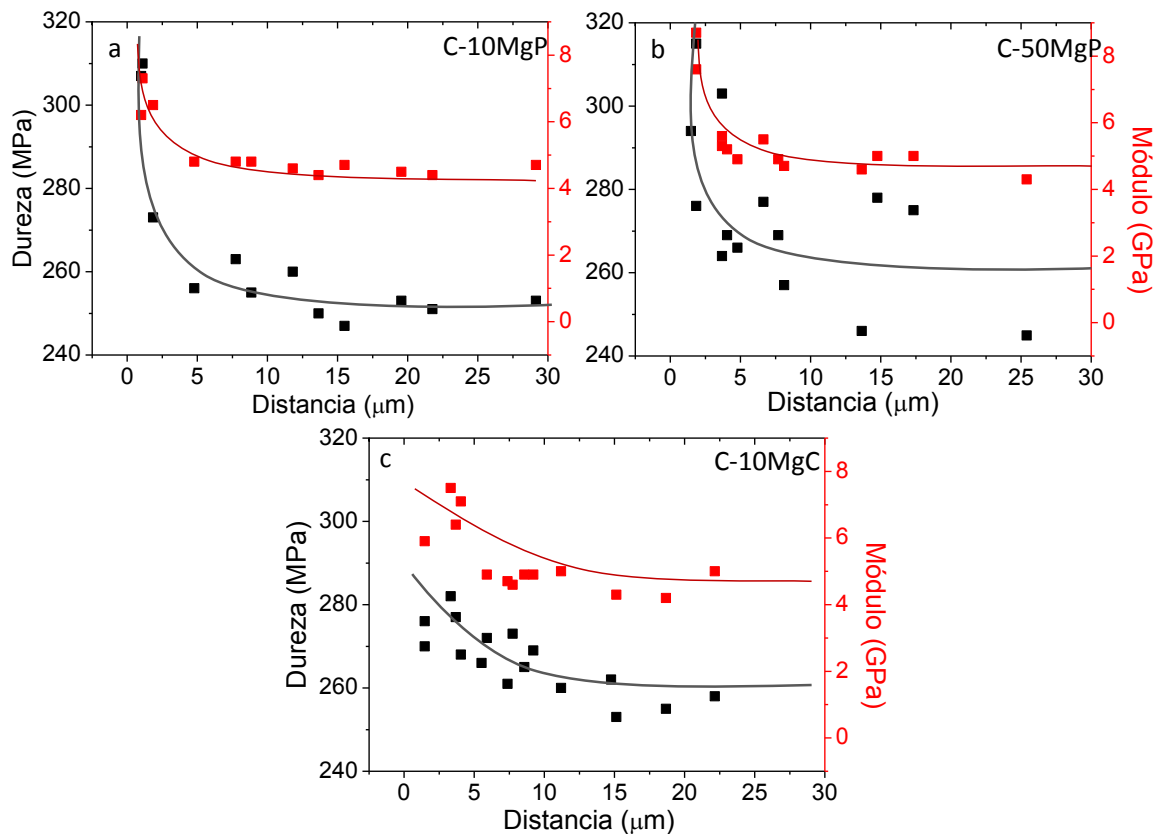


Figura 4.4.3. Gráficas de dureza y módulo elástico frente a la distancia a la carga de Mg para las muestras C-10MgP, C-50MgP y C-10MgC.

Para evaluar cuantitativamente los resultados obtenidos en las propiedades mecánicas y realizar un análisis estadístico, los valores se agruparon en dos categorías, distancias menores de 5  $\mu\text{m}$  a la partícula y mayores (Figura 4.4.4). Para la muestra C-PLA se obtiene una dureza media de  $253 \pm 6$  MPa y un módulo de  $4,9 \pm 0,1$  GPa, valores similares a los encontrados en la bibliografía para ensayos de nanoindentación ( $E=4,7$  GPa y  $H=230$  MPa) [6]. En la Figura 4.4.4a se observa que los valores de dureza obtenidos a más de 5  $\mu\text{m}$  de distancia a la partículas para todas las cintas compuestas no se diferencian del valor de la muestra C-PLA de referencia, al igual que en la Figura 4.4.4b los valores del módulo elástico. Sin embargo, en las durezas obtenidas cerca de la carga inorgánica sí hay diferencias con respecto a la matriz. En el caso de la dureza, el valor máximo lo presenta la muestra C-10MgP (297 MPa), seguida de la C-50MgP y de la procesada con CTAB. Esta última, como ya se vió en las gráficas de dureza frente a distancia a la partícula, no presenta un gradiente muy acusado en la dureza. En cuanto al módulo elástico, todas las muestras presentan una mejora en la interfaz partícula-matriz.

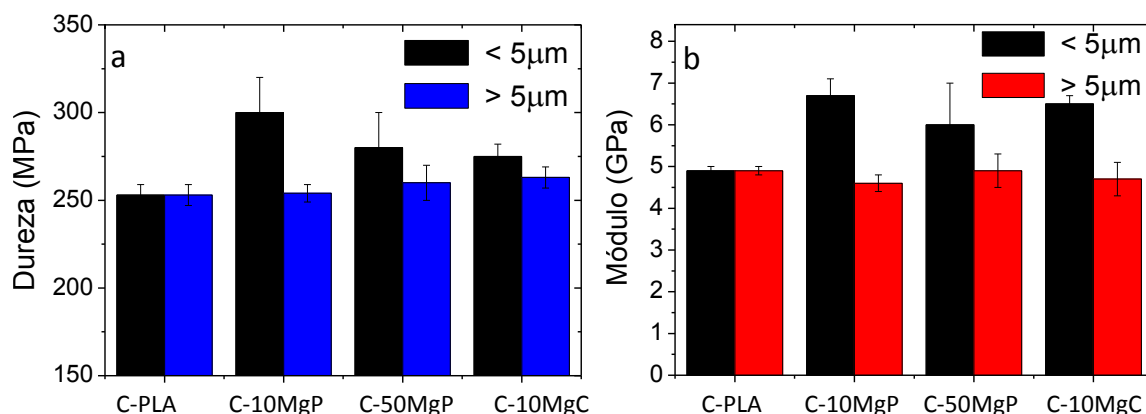


Figura 4.4.4. Valores de dureza (a) y Módulo elástico (b) de las cintas analizadas, diferencias según su distancia a la partícula:  $< 5\mu\text{m}$  ó  $> 5\mu\text{m}$ .

Una vez se llevaron a cabo los ensayos de nanoindentación y se analizaron las diferencias entre las interfaces de las muestras con dos contenidos de Mg (C-10MgP y C-50MgP) y con los dos dispersantes utilizados (CTAB y PEI), se realizaron ensayos mecanodinámicos. Este ensayo se emplea en el estudio de las propiedades viscoelásticas de un material y está basado en la aplicación de energía mecánica mediante perturbaciones sinusoidales en la zona elástico-lineal de los ensayos esfuerzo-deformación con el fin de determinar sus propiedades dinámicas. A través del análisis de la variación de las propiedades mecánicas con la temperatura se pueden estudiar las relajaciones del polímero, la miscibilidad entre distintas fases, fenómenos de nucleación, estabilidad térmica, así como la interacción existente carga-matriz. Se ensayaron muestras de las composiciones C-PLA, C-10MgP, C-30MgP, C-50MgP y C-10MgC a varias frecuencias. De manera comparativa, en la Figura 4.4.5 se representan las curvas a 1 Hz de módulo de almacenamiento, más conocido como módulo elástico ( $E'$ ), y el factor de pérdidas ( $\tan \delta$ ) frente a la temperatura.  $E'$  indica la capacidad del material para almacenar la energía suministrada mecánicamente al sistema, es una medida directa de la rigidez del material, mientras que la parte imaginaria del módulo,  $E''$  indica la capacidad del material para disipar la energía suministrada mecánicamente al sistema, y por último  $\tan \delta$  es la relación que existe entre estos dos parámetros e indica la capacidad de amortiguación del material [7]. Los resultados de estos ensayos se evaluarán en función de  $E'$  y  $\tan \delta$ .  $E''$  no se muestra ya que no aporta información adicional. La Tabla 4.4.1 muestra un resumen de los parámetros característicos de este ensayo.

En el caso de la Figura 4.4.5a se observa el módulo elástico frente a la temperatura. A bajas temperaturas el valor del módulo elástico se mantiene prácticamente constante, al aumentar la temperatura se produce una caída brusca que corresponde a una disipación de energía asociada a la transición vítrea del polímero, denominada relajación  $\beta$ . La relajación  $\beta$  está asociada a la fase amorfa del polímero y se debe a movimientos cooperativos de todas las cadenas del polímero. Debido a este inicio en la movilidad, se produce una pérdida de propiedades originando una disminución de  $E'$  para todas las muestras. Una vez se sobrepasa la temperatura de transición los módulos de los compuestos se igualan dando propiedades similares, exceptuando la cinta con mayor contenido de Mg, C-50MgP. La alta carga de Mg parece originar una rigidez residual en los materiales incluso después de sobrepasar su  $T_g$ . Para todas las muestras se observan fenómenos de cristalización en frío, lo que origina un aumento del módulo elástico a 110 °C, como se muestra en la Figura 4.4.5c.

En la cinta C-10MgP se evidencia que antes de la transición, a bajas temperaturas, existe un aumento del módulo elástico con respecto al PLA de partida (C-PLA), pero la pérdida de propiedades en este material se produce a temperaturas más bajas que en el caso del PLA sin refuerzo. El aumento del módulo se asocia al aumento de la cristalinidad de este compuesto con respecto al PLA (Tabla 4.2.3). Sin embargo, la disminución de propiedades a más bajas temperaturas se asocia a la formación de interacciones débiles polímero-partícula, que con el aumento de la temperatura tienden a desaparecer, originando una disminución de  $E'$  [8], [9]. En el caso de la muestra C-30MgP, el aumento de la carga de Mg con respecto al C-10MgP produce una disminución del módulo, al igual que para la muestra C-50MgP, lo que indicaría que la mejora de las propiedades mecánicas a baja temperatura alcanza un máximo a un 10% de carga para después disminuir. De nuevo, esto se debe a la cristalinidad que poseen estos materiales, que como ya se estudió en el capítulo 4.2 aumenta hasta un contenido del 10% de Mg, para después disminuir en el caso del 30% y el 50% de Mg, lo que origina la disminución de  $E'$ .

El uso de otro dispersante, el CTAB en la muestra C-10MgC, produce ciertas variaciones en el comportamiento del compuesto como se observa en la Figura 4.4.5. La muestra presenta un comportamiento similar al C-PLA, por lo que no se obtiene la mejora en el módulo que se observó para la muestra C-10MgP (Figura 4.4.5d). Esta falta de mejora se asocia a que, como ya se observó, el CTAB no promueve la

nucleación del PLA sobre la partícula de Mg, por lo que sus cristalinidades no aumentan con respecto al PLA y por tanto tampoco su módulo elástico.

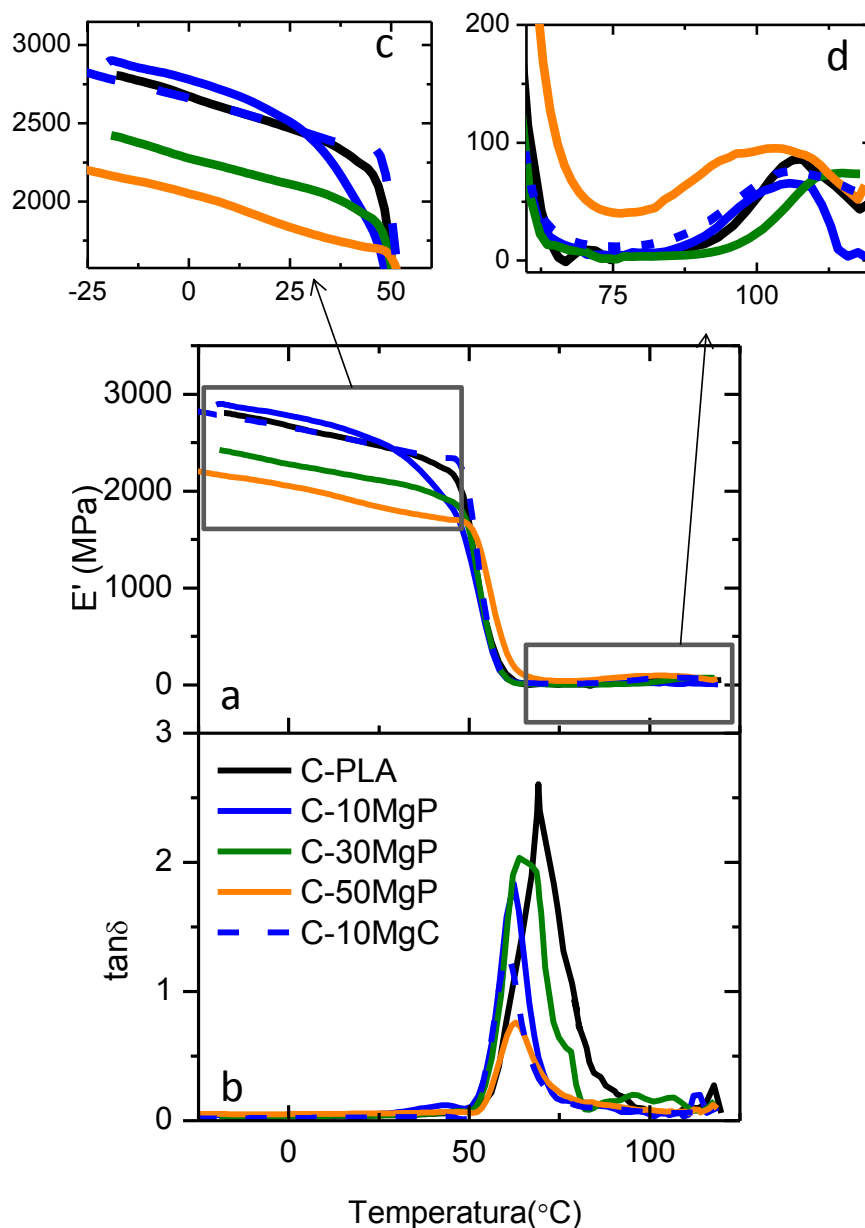


Figura 4.4.5. Medidas de DMTA de Módulo (a) y  $\tan \delta$  (b) frente a la temperatura para las cintas C-PLA, C-10MgP, C-30MgP y C-50MgP así como una ampliación del módulo a bajas (c) y altas (d) temperaturas.

En el caso de Figura 4.4.5a, para las muestras C-30MgP y C-50MgP se muestra que la adición de carga ocasiona una zona de *plateau* más larga en la  $E'$  a bajas temperaturas. Este comportamiento suele deberse a que la carga estabiliza térmicamente la matriz polimérica [10], todo lo contrario a nuestro caso. Como ya se analizó en las termogravimetrías de los materiales, tanto el MgO como el  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  son agentes despolimerizantes térmicos de las cadenas de PLA [11]. Por lo tanto, asociamos esta



estabilización a un aumento de la restricción en el movimiento de las cadenas poliméricas debido a la carga inorgánica presente en la matriz.

En la Figura 4.4.5b se observa que el factor de pérdidas frente a la temperatura tiene un máximo en la zona de transición vítrea que se corresponde con la caída de  $E'$ . El factor de pérdida en esta región es una medida de la imperfección en la elasticidad del polímero, que suele incrementarse con la pérdida adicional de energía disipada en forma de calor, al no existir una buena interfaz polímero-carga [12]. El máximo de  $\tan \delta$  decrece para todos los compuestos de Mg con respecto a la referencia C-PLA. Esta pérdida de  $\tan \delta$  se asocia a la disminución de la elasticidad de los compuestos y por tanto se puede relacionar con diferentes factores como la  $T_g$  y la cristalinidad del compuesto. Al superponerse estos factores, no se observa una tendencia clara en la  $\tan \delta$  con el aumento de carga.

Tabla 4.4.1. Parámetros obtenidos de los ensayos mecanodinámicos, módulo elástico a 25, 37 y 70 °C y temperatura  $T_g$  obtenida mediante el máximo de  $\tan \delta$ .

	C-PLA	C-10MgP	C-30MgP	C-50MgP	C-10MgC
$E'$ (25°C) (MPa)	2471	2528	2108	1834	2472
$E'$ (37°C) (MPa)	2325	2151	2003	1749	2364
$E'$ (70°C) (MPa)	8	8	7	51	13
$T_g(\tan \delta)$ (°C)	64.2	62,3	63.8	62,8	61

Las  $T_g$  determinadas a partir del máximo de  $\tan \delta$  (Tabla 4.4.1) son a ligeramente mayores temperaturas que las medidas mediante DSC, Tabla 4.2.3, y varían con la cantidad de carga en los compuestos. Al igual que ocurría con los resultados de los DSC, no se observa una tendencia clara por superposición de la disminución de la cristalinidad y la restricción en el movimiento de cadenas.

Con este ensayo llegamos a la conclusión de que, aunque las partículas de Mg pueden actuar como refuerzo de la matriz polimérica, encuentran su máximo de elasticidad en un 10% de Mg para posteriormente disminuir.

Una vez caracterizados los materiales mediante nanoindentación y DMTA, que como se comentó en la introducción se realizaron para tener información de la interfaz polímero-partícula, se llevó a cabo la caracterización mecánica de las cintas mediante ensayos a tracción.

Se han estudiado las propiedades mecánicas de los compuestos de PLA con diferentes fracciones de peso de Mg y dispersante: C-PLA, C-5MgP, C-10MgP, C-30MgP, C-50MgP y C-5MgC, C-10MgC, C-30MgC y C-50MgC. Como se ve en la Figura 4.4.6, el contenido de carga tiene una gran influencia. En la Figura 4.4.6a se puede ver que la deformación a rotura de las cintas decrece fuertemente con el aumento de la fracción de peso de Mg hasta el 10% para los dos dispersantes estudiados, a partir de ese contenido, la deformación se mantiene en valores muy pequeños.

La Figura 4.4.6b y c muestra la variación en la resistencia máxima a tracción y en el módulo de Young con respecto a la fracción en peso de Mg de las cintas. En comparación con las de PLA (C-PLA), el módulo elástico (E) de los compuestos de 5% de Mg tanto con PEI como con CTAB (C-5MgP y C-5MgC) aumenta ligeramente hasta 2090 MPa. A partir de ese contenido, con un aumento adicional de la fracción de peso, el módulo del compuesto disminuye drásticamente. Del mismo modo, con la adición de un 5% de carga, la resistencia máxima a tracción de la cinta compuesta de PEI se mantiene igual a la cinta C-PLA para posteriormente disminuir al aumentar la carga (Figura 4.4.6b). Sin embargo, para las cintas de CTAB la resistencia disminuye para todos los contenidos.

En consonancia con los resultados del DMTA, las propiedades del material compuesto experimentan un aumento al aumentar ligeramente la carga en la matriz y, después de alcanzar un umbral, estas propiedades comienzan a disminuir. La mejora se observa en términos de módulo elástico y esfuerzo de tracción, principalmente para las muestras procesadas con PEI. El refuerzo únicamente observado para bajos contenidos de carga puede deberse a varios factores, a una mala dispersión de la carga inorgánica en la matriz, a un endurecimiento excesivo o a una unión mecánica deficiente que empeora la transferencia de carga entre el refuerzo y la matriz [13]. Pero también puede deberse a una baja transferencia efectiva de la carga entre las cadenas poliméricas y la carga añadida [14], que suele verse favorecida mediante una alta relación superficie-volumen (inversamente proporcional al radio de partículas esféricas). En cualquier caso, si la aplicación no requiere altas prestaciones mecánicas, el uso de altas fracciones de masa de Mg puede ser interesante desde otros puntos de vista.

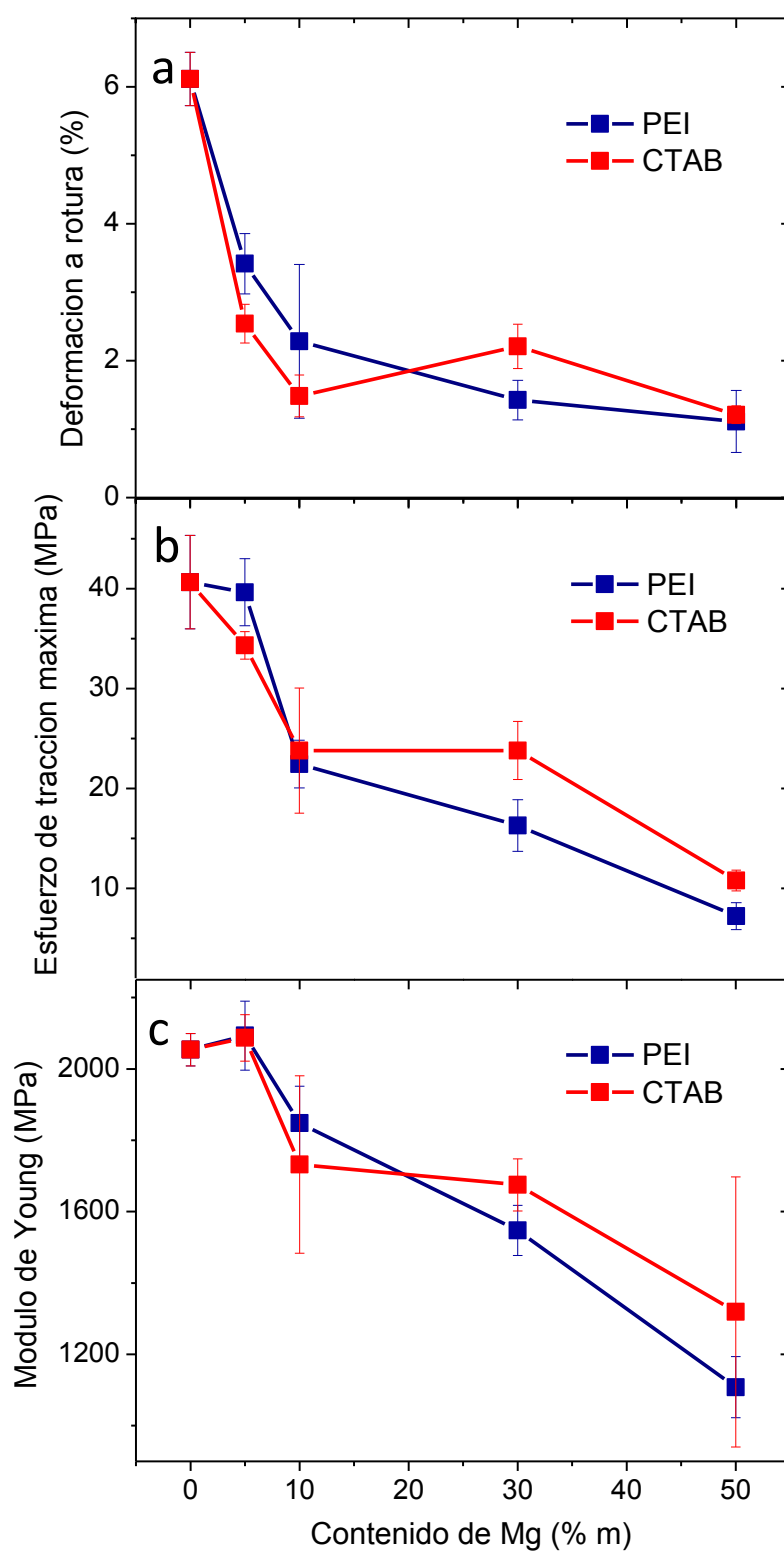
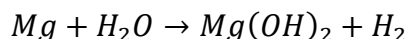


Figura 4.4.6. Propiedades mecánicas de los compuestos a tracción, se representa la deformación a rotura (a), el esfuerzo de tracción máxima (b) y el módulo de Young frente al contenido de Mg. (c)

#### 4.4.1.2 Caracterización *in vitro* de las cintas de PLA/Mg

En base a la reacción redox (Eq.4.4.1.) que se produce al poner en contacto Mg metálico con agua se tiene que por cada átomo o mol de Mg se genera una molécula o mol de H<sub>2</sub>.



Eq.4.4.1

Por lo tanto, la liberación de H<sub>2</sub> que ocurre en la corrosión del Mg es equivalente a la pérdida de masa del metal [15]. Teniendo en cuenta que las medidas de pérdida de masa de los materiales dan la información final, después de concluido el ensayo de corrosión, estas no aportan datos acerca del comportamiento o del mecanismo de la degradación durante el proceso [16]. Por ello, las medidas de liberación de hidrógeno se presentan como una técnica sencilla para estudiar la evolución del Mg *in vitro* a lo largo de todo el tiempo que dura el ensayo.

En la Figura 4.4.7 se representa la liberación de hidrógeno para dos composiciones (C-10Mg y C-30Mg) con los dos dispersantes utilizados, CTAB y PEI, para estudiar cómo modifican ambos dispersantes la velocidad de corrosión del Mg. El ensayo se realizó durante una semana a una temperatura de 37 °C y en un tampón fosfato salino (PBS).

En primer lugar, se observa que la liberación de hidrógeno aumenta durante los siete días de degradación. Las muestras con mayor contenido de Mg (C-30Mg) se diferencian de las de menor (C-10Mg) a partir del segundo día de inmersión. Desde las 48 h, la corrosión de las muestras C-30Mg aumenta más, hasta llegar a liberar a los 7 días 2 y 4 veces la cantidad de hidrógeno que las cintas C-10MgP y C-10MgC, respectivamente. Otro hecho destacable es que la dispersión de la medida de liberación de hidrógeno es mayor en las muestras con más contenido de Mg, lo cual se podría explicar por una mayor heterogeneidad en la distribución de las partículas de Mg en las cintas con mayor contenido.

Varios polielectrolitos han sido utilizados por otros grupos de investigación para controlar la corrosión o degradación de aceros [17] o incluso de metales como el Mg [18], obteniéndose buenos resultados, al igual que sucede con surfactantes, que llegan a mejorar la corrosión de compuestos níquel-fosfuros [19] o aleaciones de cobre [20]. En la Figura 4.4.7 se observa también que las muestras dispersadas con CTAB liberan algo más de hidrógeno que las dispersadas con PEI, lo que evidencia que la protección de las

partículas con el polielectrolito es más efectiva que con el surfactante. Además el anclaje efectivo del PEI-PLA, observado en las medidas de FTIR y la interfaz polímero-partícula definida por los ensayos de nanoindentación, determina la baja permeabilidad del agua en estos compuestos, y por tanto su difusión hacia la partícula, que retrasa su degradación. Por último, la peor distribución de partículas de Mg en las muestras procesadas con CTAB explicaría la mayor dispersión de los resultados de C-30MgC con respecto a C-30MgP, al igual que ocurría con las cintas reforzadas con 10 % de Mg.

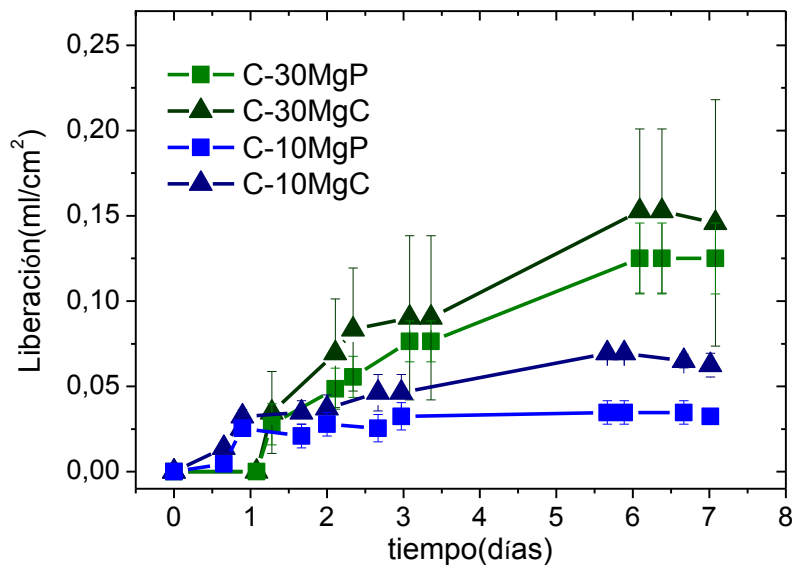


Figura 4.4.7. Liberación de hidrógeno durante una semana para las muestras C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP y C-30MgC.

Debido a que las muestras procesadas con PEI han dado mejores resultados en cuanto a liberación y propiedades mecánicas del compuesto, se decidió realizar un estudio más extenso para estos materiales. En la Figura 4.4.8 se muestra la evolución de liberación de hidrógeno para 4 compuestos: C-5MgP, C-10MgP, C-30MgP y C-50MgP. Este ensayo se realizó a 3 meses en PBS, exceptuando la muestra C-50MgP que se degradó completamente a los 2 meses.

En primer lugar se observa, como era de esperar, que las muestras con mayor contenido en magnesio liberan una mayor cantidad de gas frente al tiempo de inmersión. Las diferencias no solo se aprecian en la mayor cantidad de hidrógeno acumulado, sino también en la velocidad a la que se acumula. Se observa un aumento de la pendiente de la liberación en los primeros 20 días de inmersión conforme mayor contenido de Mg tiene la cinta. Por otro lado, cuanto menor cantidad de Mg tienen, más tardan en alcanzar el *plateau*, de modo que la cinta C-50MgP lo alcanza en el primer mes de

inmersión, la C-30MgP en el segundo mes y en C-10MgP y C-5MgP parece empezar a alcanzarse al final del ensayo, a los 3 meses.

Este comportamiento se puede comparar con el de aleaciones de Mg sin o con recubrimiento que se reporta en la bibliografía. Por ejemplo, en aleaciones M1A y AZ31 [21], [22], se midió una velocidad de degradación mucho más elevada en los inicios de la inmersión, hasta llegar a un *plateau* en la liberación de hidrógeno a las 25 y 80 h, respectivamente. Sin embargo, Butt *et al.*[23] no llegan a la zona de estabilidad o liberación nula en sus barras de Mg recubiertas de PLA mediante moldeo por inyección a los 14 días de inmersión, lo que apoya la hipótesis del efecto protector de la matriz polimérica de PLA de la degradación de las partículas de Mg.

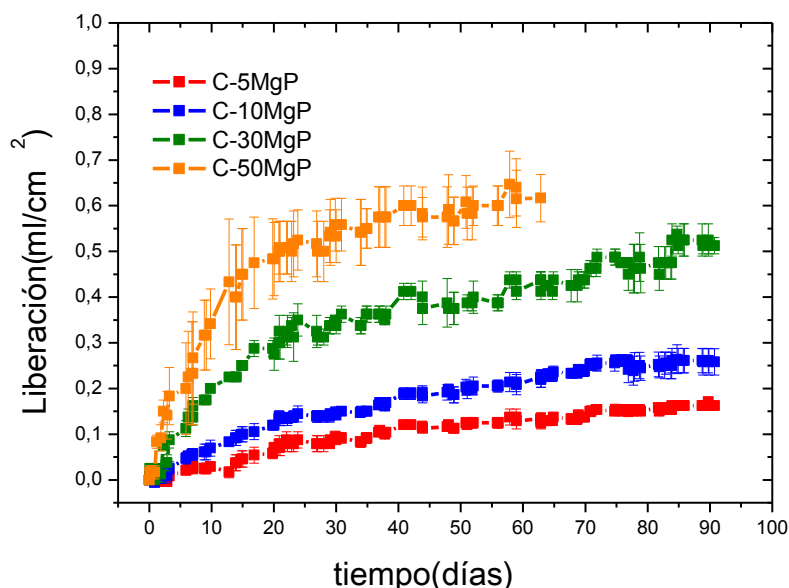


Figura 4.4.8. Liberación de hidrógeno de las C-5MgP, C-10MgP, C-30MgP y C-50MgP durante tres meses de inmersión en PBS.

El magnesio puro a 37 °C libera al día de media 40 ml/cm<sup>2</sup>, y aleaciones como Mg0,8Ca, ZQ63 y ZQ71 liberan 7,58; 4,6 y 2,90 ml/cm<sup>2</sup>/día respectivamente [24], o 1,69 ml/cm<sup>2</sup>/día para aleaciones Mg1Ca [25]. En el caso de materiales PLA/Mg, en placas de Mg recubiertas mediante mojado, la liberación es de 0,07 ml/cm<sup>2</sup> /día [26] y en barras de Mg con recubrimiento mediante moldeo es de 0,035 ml/cm<sup>2</sup> /día [23]. Comparando los datos de la bibliografía con las cintas estudiadas, la de mayor contenido en Mg (C-50MgP) en el periodo de máxima corrosión libera 0,025 ml/cm<sup>2</sup> /día, que es menor incluso que en el material de Butt *et al.* [23]. El valor descrito en la bibliografía tolerado por el cuerpo humano es de 2,25 ml/cm<sup>2</sup>/día de Mg, por lo que en términos de acumulación de hidrógeno, estas cintas serían aptas para su uso biomédico.

Para hacer una caracterización más exhaustiva del comportamiento a degradación de las cintas se realizó un estudio mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) del corte transversal de las mismas. En la Figura 4.4.9 y Figura 4.4.11 se observan partículas de Mg embebidas en la matriz de PLA y degradadas durante una semana y un mes en PBS.

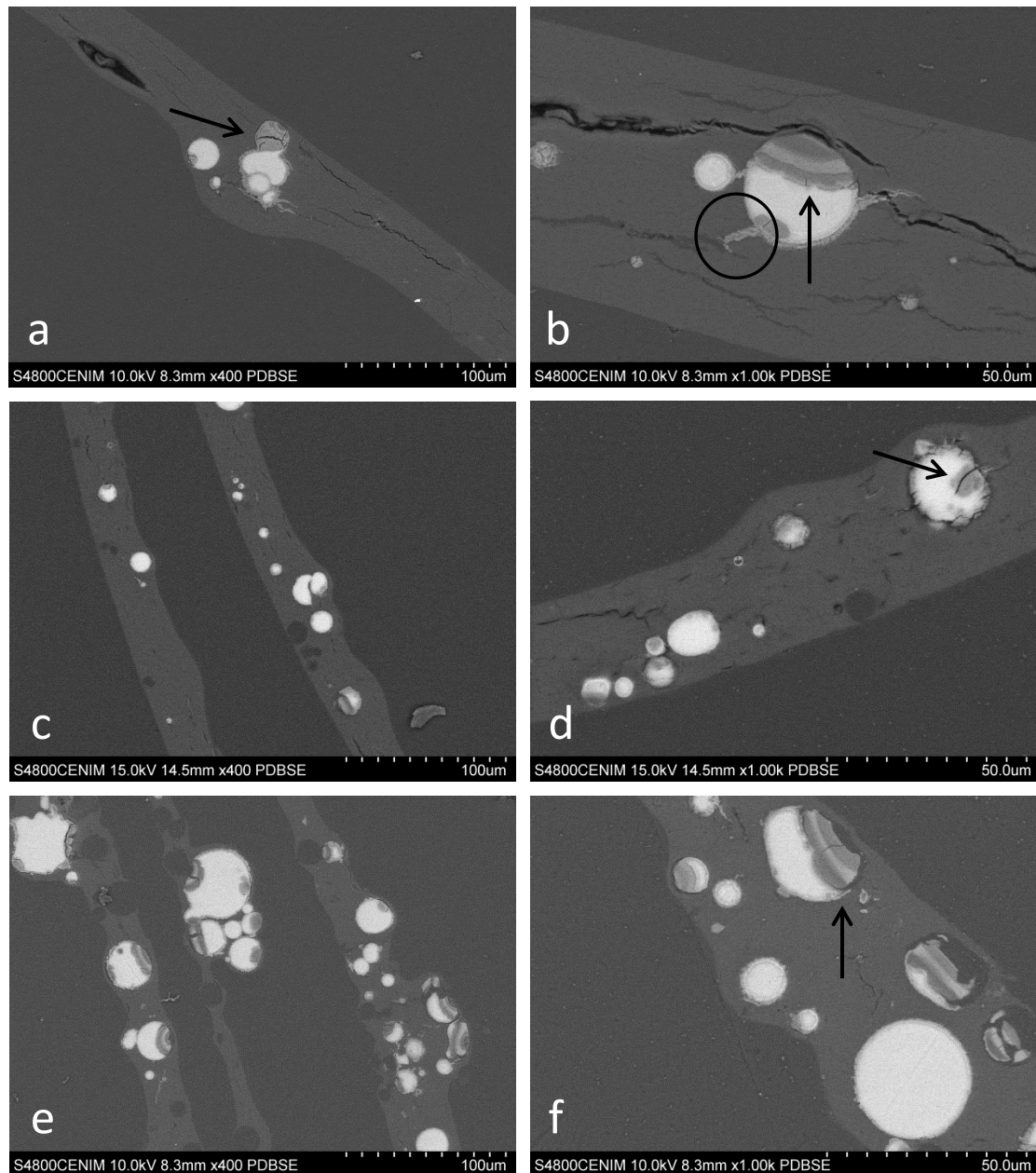


Figura 4.4.9. Muestras C-10MgP (a,b), C-30MgP (c,d), C-50MgP (e,f) inmersas durante 1 semana en PBS.

En la Figura 4.4.9a y b se presenta la cinta C-10MgP a dos aumentos, en este caso se observan los primeros indicios en la degradación con la aparición en la superficie de las partículas de una fase diferente al Mg, que seguramente corresponde a  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , y que

se forma por la reacción del Mg con el medio líquido. Este llega a las partículas debido a la permeabilidad de la matriz de PLA.

En el caso de la Figura 4.4.9b, d y f, se observa que la degradación de las partículas de Mg no ocurre siempre de manera radial y homogénea sino que en ocasiones progresa desde focos preferenciales de reacción que comienzan en algún defecto, una grieta, como se señala en las figuras con flechas y círculos, que se haya formado en la matriz, y que facilita el contacto del medio líquido con la partícula.

Las cintas degradadas se analizaron mediante EDX (Espectroscopía de rayos X de energía dispersiva). En la Figura 4.4.10 se recogen los datos para la cinta C-10MgP a modo representativo. El primer análisis corresponde al interior de la partícula de Mg, el segundo al hidróxido asociado a ella y el tercero a una grieta con el mismo contraste que el del hidróxido. En el Espectro 1 únicamente se observa Mg, sin embargo en el 2 y 3 hay un aumento notable de la cantidad de oxígeno asociada a la formación del  $Mg(OH)_2$ . Por otro lado, se puede ver que hay también elementos que componen el PBS (Na, P, y Cl ), indicando la deposición de las sales, tanto en el frente de degradación como en la grieta. Cifuentes *et al.* [27] ya observó la deposición de las sales contenidas en el medio de degradación (PBS) en las fases de degradación del Mg.

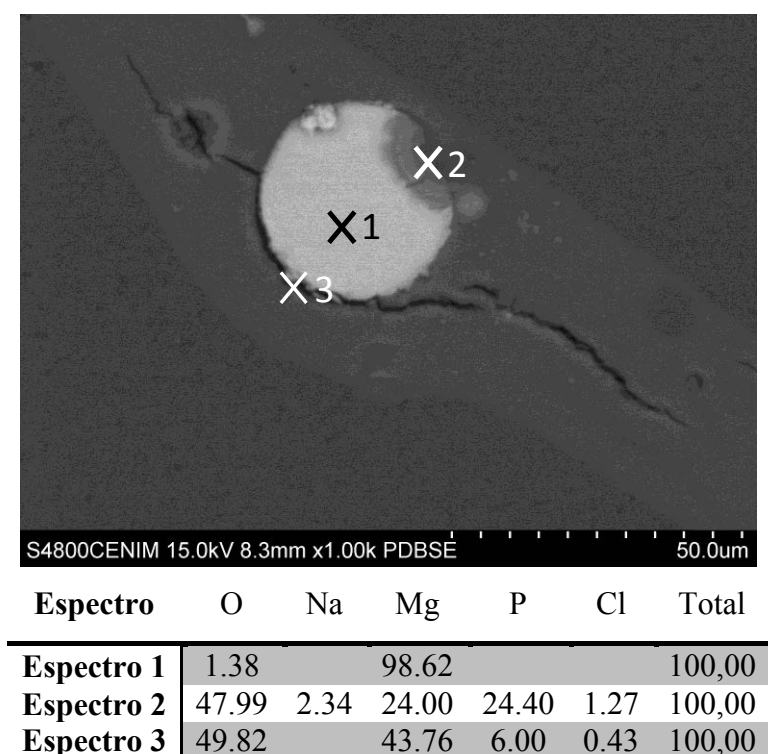


Figura 4.4.10. EDX de la cinta C-10MgP degradada durante un mes. Donde X1, X2 y X3 corresponden a los espectros 1,2 y 3 respectivamente.



El  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  es un hidróxido que se agrieta fácilmente, como se observa en la Figura 4.4.9. Cuando una partícula de Mg comienza a degradarse, el hidróxido formado contribuye a que se produzca grietas en la matriz polimérica que facilitan el paso de medio al interior de la cinta, lo que acelera a su vez la degradación. En este caso también evidenciamos fenómenos de precipitación del  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  en las grietas del PLA, por lo que se comprueba que el hidróxido a una semana de inmersión empieza a disolverse en el medio. Estos fenómenos se deben a la solubilidad del hidróxido ( $K_{ps} = 1,8 \cdot 10^{-11}$ ) en el medio de degradación, que una vez se difunde a través de la cinta se sobresatura en las grietas volviendo a precipitar.

En el caso de las muestras C-30MgP (Figura 4.4.9c y d) el comportamiento es similar al de la C-10MgP, solo que el grado de degradación de las cintas es mayor, coincidiendo con los resultados obtenidos en liberación. Se observan partículas parcialmente degradadas y algunas sin degradar, así como grietas en la matriz polimérica. Las probetas C-50MgP (Figura 4.4.9e y f) también presentan degradación en prácticamente todas las partículas, empezándose a mostrar, en algunos casos, los huecos que dejan al reaccionar y posteriormente disolverse o desprenderse de la cinta. La presencia de huecos se observó principalmente en las probetas con mayor contenido en Mg y en las de mayor grado de degradación.

En la Figura 4.4.11 se presentan micrografías de las probetas después de un mes de inmersión. En el caso de las muestras C-10MgP (Figura 4.4.11a y b) se detecta que aún sigue habiendo partículas parcialmente sin reaccionar, así como otras que han reaccionado por completo y están disolviéndose en el medio. También se observa un aumento de grietas así como su ensanchamiento, probablemente debido a la precipitación del hidróxido en las paredes, que fuerza el crecimiento de las mismas y a la degradación acelerada del polímero por aumento local del pH [27]. Las múltiples grietas que se visualizan en la Figura 4.4.11b en la fase de reacción  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , confirman la fragilidad de esta fase.

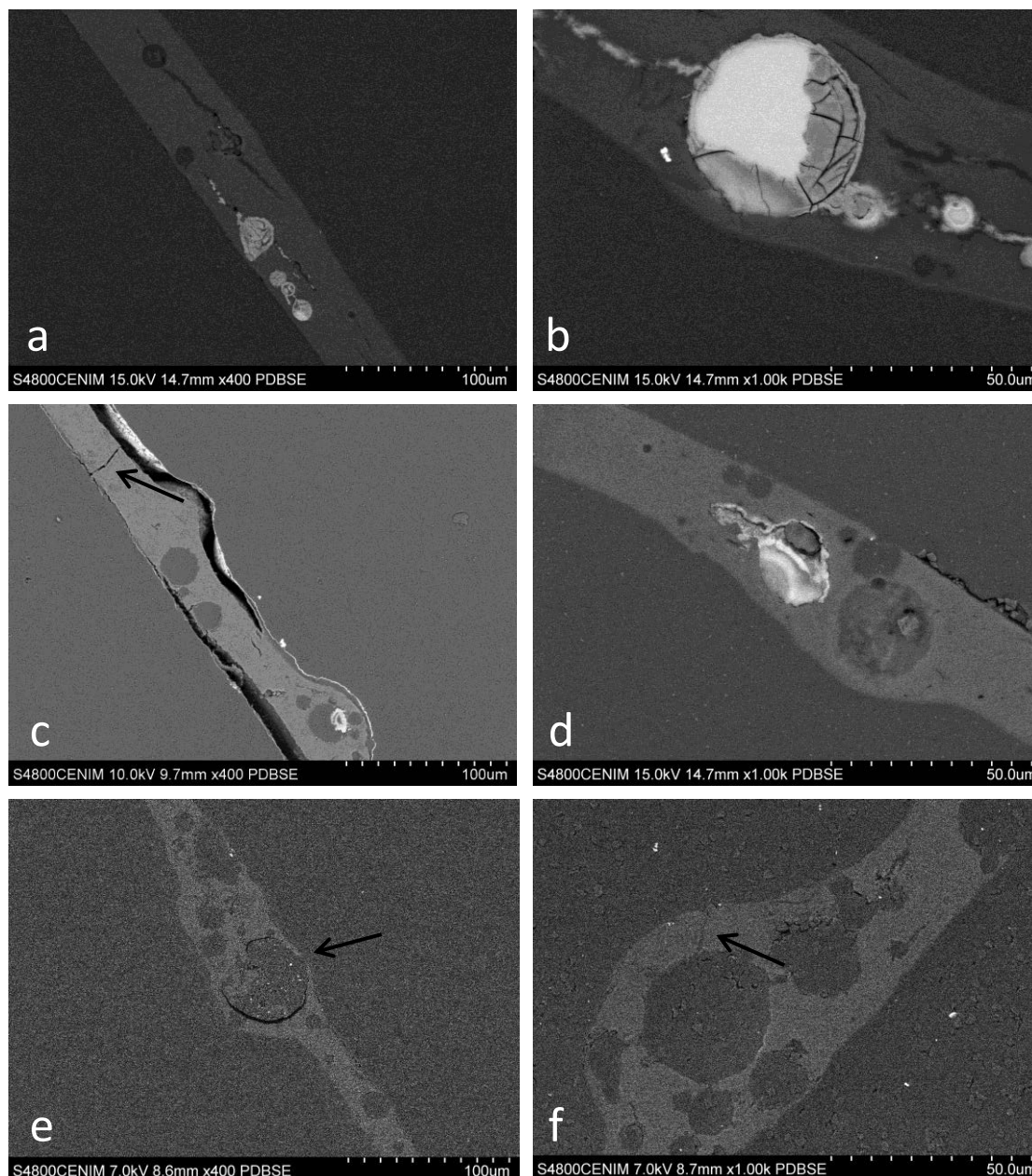
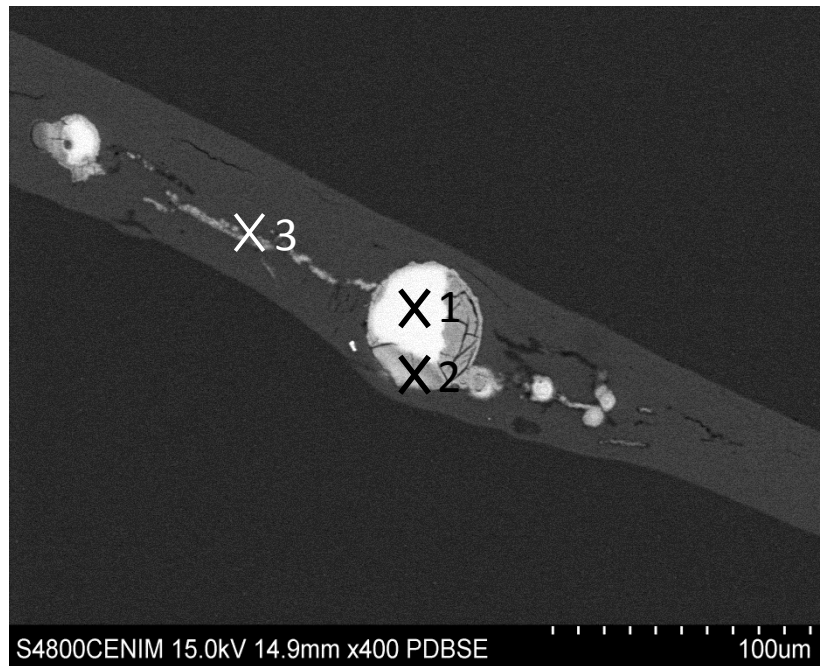


Figura 4.4.11. Muestras C-10MgP (a,b), C-30MgP (c,d), C-50MgP (e,f) inmersas durante 1 mes en PBS.

Se analizó mediante EDX la muestra C-10MgP degradada durante un mes (Figura 4.4.12). El primer análisis corresponde a una partícula de Mg, el segundo al hidróxido asociado a ella y el tercero a una grieta con el mismo contraste que el del hidróxido. En el espectro 1 únicamente se observa Mg, y en el 2 y 3 hay un aumento notable del  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . Por otro lado, se puede ver que de nuevo que están presentes los elementos que componen el PBS (Na, P, Cl y K), indicando que la deposición de las sales es un proceso continuo, y posiblemente estas también se redisuelvan y reprecipiten durante el tiempo de inmersión



Espectro	O	Na	Mg	P	Cl	K	Total
<b>Espectro 1</b>			100,00				100,00
<b>Espectro 2</b>	48,83	5,17	22,13	21,54	2,34		100,00
<b>Espectro 3</b>	48,44	1,37	27,82	19,17	2,92	0,30	100,00

Figura 4.4.12. EDX de la cinta C-10MgP degradada durante un mes. Donde X1, X2 y X3 corresponden a los espectros 1,2 y 3 respectivamente.

En el caso de C-30MgP, el grado de degradación es más alto, una gran mayoría de partículas ha desaparecido (disueltas o liberadas de la cinta al medio), y solo quedan algunas que presentan un núcleo de Mg que aún continua liberando hidrógeno al reaccionar. Como se observó en la Figura 4.4.8, la cantidad de hidrógeno liberado a un mes de inmersión de las cintas C-30MgP es elevado, pero la liberación continúa durante los 3 meses que dura el ensayo debido a esos núcleos de Mg que siguen reaccionando (Figura 4.4.11c y d). También existe una gran cantidad de grietas, incluso algunas han avanzado hasta prácticamente romper la cinta en dos.

En el caso de las probetas C-50MgP se evidencian también los resultados observados en liberación de hidrógeno, ya que el estado de degradación es muy elevado, de hecho, no se encuentran partículas sin degradar y ningún rastro de hidróxido. En este caso se puede estudiar mejor la degradación de la matriz polimérica, observamos que la presencia de tantas grietas ha llegado a romper la cinta aumentando la superficie específica expuesta al medio, facilitando la depolimerización del PLA por hidrólisis.

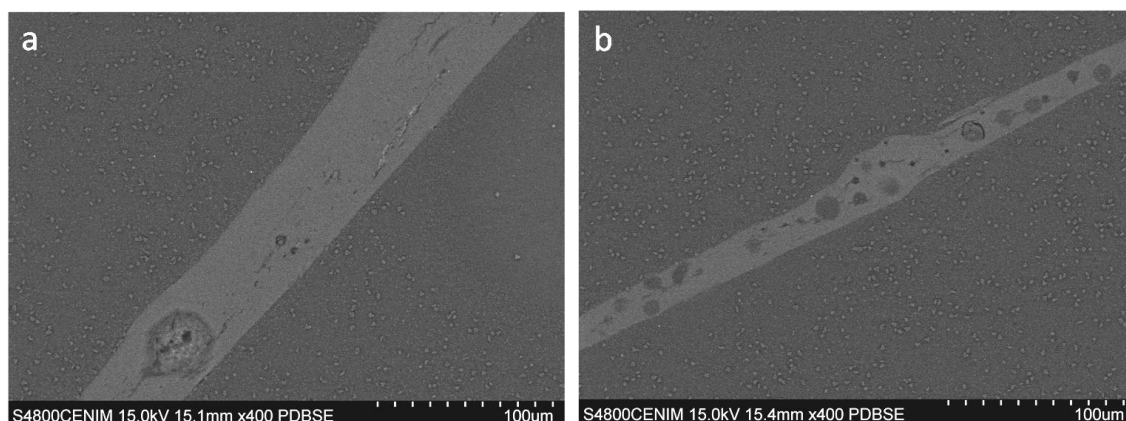
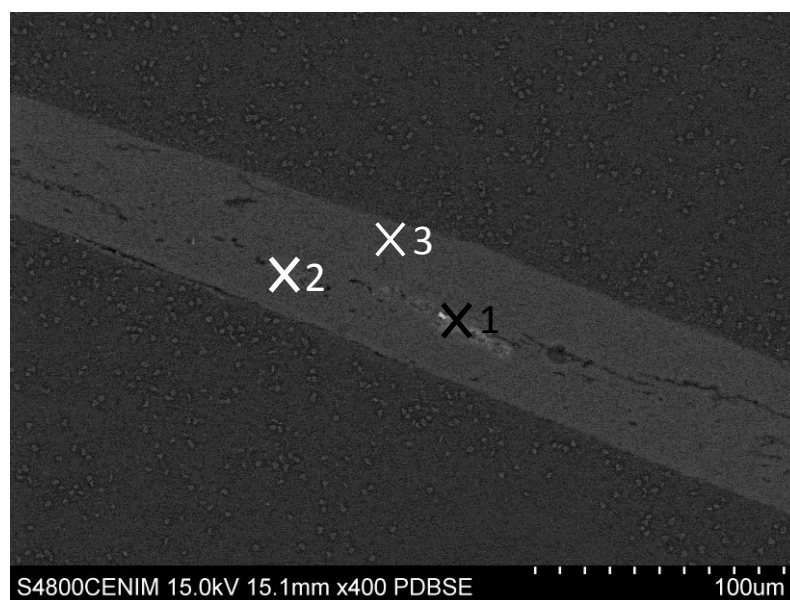


Figura 4.4.13. Muestras C-5MgP (a), C-50MgP (b) inmersas durante 2 meses en PBS.

Después del primer mes de inmersión, las muestras presentan un alto grado de degradación a dos meses de inmersión (Figura 4.4.13), por lo que no se ha realizado un estudio exhaustivo de su microestructura. Las cintas degradadas apenas presentan diferencias entre ellas, no se encuentra Mg puro, aunque sí se detectan restos de hidróxido, principalmente en las cintas de menor contenido de Mg como la C-5MgP (Figura 4.4.14). Mediante EDX puede observarse una presencia notable de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , sobre todo en las grietas que ha originado la degradación del PLA. La deposición de la sales del medio también está presente en las cintas degradadas durante 2 meses.



Espectro	C	O	Na	Mg	P	Cl	Total
Espectro 1	7.43	67.59	9.61	4.74	4.83	5.79	100.00
Espectro 2		56.76	2.54	19.68	21.02		100.00
Espectro 3	67.79	32.21					100.00

Figura 4.4.14. EDX de la cinta C-5MgP degradada durante 2 meses.

Además de la liberación de hidrógeno y la microestructura de las cintas degradadas, se midió por espectroscopía de llama la concentración de iones  $\text{Mg}^{2+}$  liberado al medio. Cabe destacar que la solución se cambiaba cada semana, por lo que las medidas no son acumulativas. Los resultados se presentan en la Figura 4.4.15.

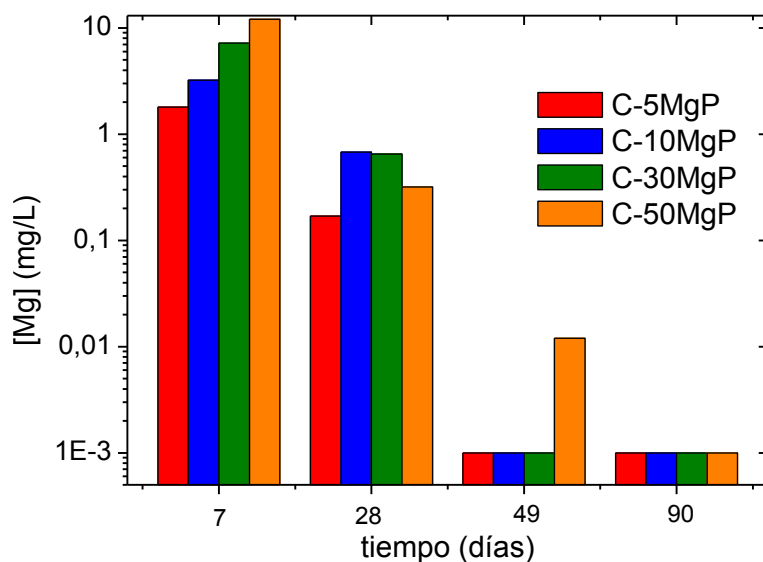


Figura 4.4.15. Liberación de iones  $\text{Mg}^{2+}$  al medio en la semana 1, 4, 7 y 12.

La primera semana fue la que dio los valores más altos de liberación de iones, donde la acumulación de  $\text{Mg}^{2+}$  estaba directamente relacionada con la concentración de Mg de las cintas, lo cual se relaciona a su vez con los resultados obtenidos para liberación de  $\text{H}_2$  como se muestra en la Figura 4.4.16. Se observa que aunque hay una relación entre los moles de Mg y de  $\text{H}_2$ , no es 1:1 como muestra su estequiometría. Este resultado se puede relacionar directamente con la precipitación del hidróxido en las cavidades de las cintas, que al no disolverse no se detecta en disolución. Este fenómeno ocurre en mayor medida para las cintas de mayor contenido en Mg.

Pasado un mes, la liberación de iones  $\text{Mg}^{2+}$  al medio no aumenta con la cantidad de Mg de las cintas, y C-30MgP y C-50Mg presentan menor liberación de lo esperado. Esto se asocia a que, como se ha comentado en relación a la Figura 4.4.16, el hidróxido tiende a depositarse y no a disolverse conforme reacciona, lo que ocurre en mayor medida para cintas con mayor contenido de Mg (C-30MgP y C-50Mg). Esto podría originar una sobresaturación del medio en estas grietas y un leve impedimento en la disolución del hidróxido para estos contenidos.

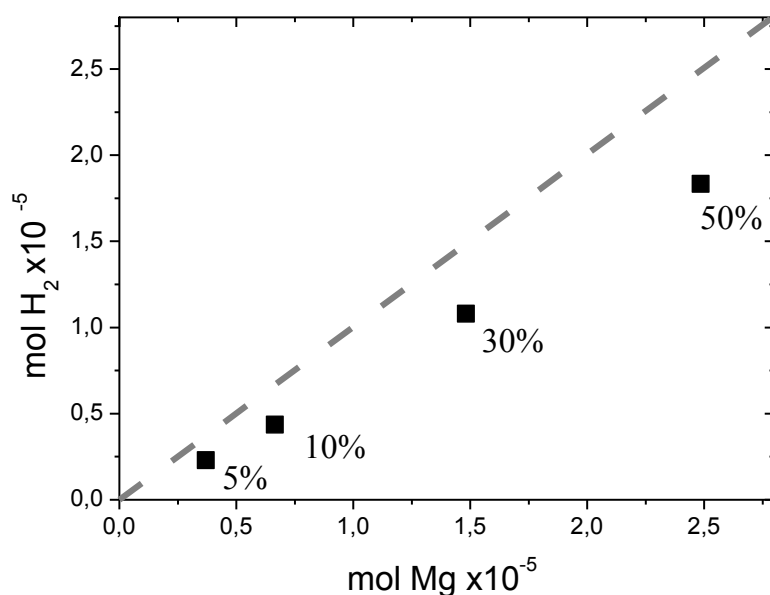


Figura 4.4.16. Relación real entre los moles de H<sub>2</sub> liberados y los iones Mg que se encuentran en disolución, comparada con la relación ideal 1:1, pasada una semana de inmersión.

Después de dos meses de inmersión, el valor de [Mg<sup>2+</sup>] liberado al medio durante la semana 8 es prácticamente constante para todas las muestras exceptuando la C-50MgP. Esta sigue liberando iones, indicando que al ser la de mayor contenido de Mg, sigue conteniendo hidróxido sin disolverse. Esto evidencia que las imágenes de microscopía de barrido para las cintas C-50MgP con 1 mes de degradación, Figura 4.4.11e y f, no son completamente representativas y avala la hipótesis de que al realizar el pulido de las probetas, el hidróxido se desprende debido a su fragilidad o también podría ser indicativo de que durante la inmersión la interacción PLA-PEI desaparece debilitando la unión carga-matriz. Después de tres meses de degradación, semana 12, no se detecta Mg en ninguna de las disoluciones (el valor que se ha puesto en la figura es el del límite de detección del equipo).

Wei *et al.* [26] observa para sus aleaciones AZ31 y estas mismas recubiertas con PLA una concentración de iones en el medio que crece homogéneamente hasta los 30 días. Esto es debido de nuevo a que el PLA actúa como capa protectora del Mg ralentizando su corrosión y su posterior disolución, pero también a que al ser materiales densos la permeabilidad del medio desde el exterior hasta el interior es más difícil. Este fenómeno también se observa en otras aleaciones de Mg, ZK30 y ZK60 [28] o MgCa [25]. La disolución del Mg ocurre de esta manera debido a que en la cinta todas las partículas están cerca de la superficie, por lo que el medio líquido tiene que recorrer menos distancia hasta el interior disolviendo las sales solubles como el Mg(OH)<sub>2</sub>. De esta

forma podemos demostrar que la reacción de las partículas y la disolución del hidróxido ocurren de manera superpuesta.

Se llevó a cabo el estudio del comportamiento térmico de los materiales después de su degradación a 1 y 2 meses. De esta manera se pretende analizar los cambios que se han originado en la matriz debido tanto a la depolimerización como al envejecimiento o la cristalización. En la Figura 4.4.17, Figura 4.4.18 y Figura 4.4.19 se presentan las curvas de flujo de calor frente a la temperatura de los tres materiales, C-PLA, C-10MgP y C-30MgP, a tres tiempos de degradación (0, 1 y 2 meses). Por otro lado, se estudian 2 ciclos, el primer y segundo calentamiento (F10 y CR10F10). En la Tabla 4.4.2 se recogen los datos obtenidos de las calorimetrías, para el primer calentamiento, y en la Tabla 4.4.3 para el segundo. En el caso de las cintas degradadas, aun pudiendo calcularse la cristalinidad de los polímeros, siempre se produciría un error debido a la cantidad de Mg que queda en la matriz y que no ha sido cuantificada, por lo que este valor no se analizará en este apartado. El PLA no cristaliza desde el fundido (CR10) sino que lo hace en frío (F10 y CR10F10), por ello no se representará ninguna curva de enfriamiento en este estudio.

En la Figura 4.4.17 podemos observar las variaciones producidas por la degradación en las cintas de PLA sin partículas de Mg. En primer lugar destaca el envejecimiento físico que produce la inmersión en PBS de las muestras, fenómeno que ya ha sido reportado en la bibliografía [29]. Debido a este envejecimiento, la  $T_g$  se produce a mayores temperaturas (Tabla 4.4.2), ya que se necesita una mayor energía para liberar las cadenas poliméricas de su estado. Sin embargo al observar las cristalizaciones durante la fusión, el área bajo el pico de  $T_{cc}$  es mayor y aparece a más bajas temperaturas, por lo que se interpreta que la cristalinidad de las muestras es menor y por ello tienen más capacidad de cristalizar durante la medida. Por otro lado, la fusión se da a dos temperaturas diferentes que se asocian a la fusión de cristales más imperfectos a temperaturas más bajas. Conforme la degradación de las cintas aumenta, el primer pico de fusión tiende a desaparecer, por lo que la pérdida de cristalinidad observada en la  $T_{cc}$  se asociaría a la pérdida de este tipo de cristales.

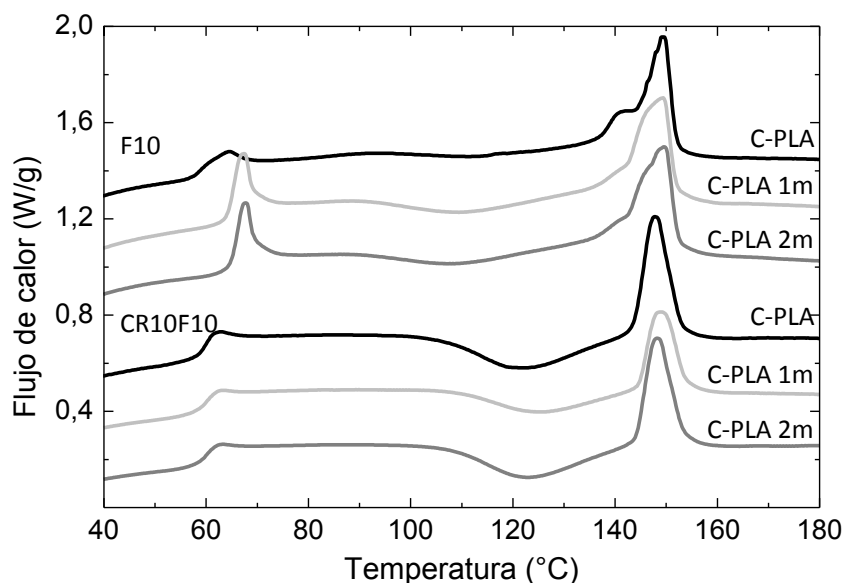


Figura 4.4.17. Curvas de calorimetrías de C-PLA después de 0, 1 y 2 meses de degradación. Primer y segundo calentamiento.

En el caso del segundo calentamiento, después de haber borrado el historial térmico del material, observamos que en los parámetros térmicos las diferencias son mínimas, por lo que no se puede asegurar que ha habido una degradación clara en el PLA a 60 días de inmersión. Tertyshnaya *et al.* [30] reportan disminuciones en la  $T_g$  y la  $T_m$  a los 120 días, pero en nuestro caso las variaciones después de dos meses de inmersión de C-PLA parecen ser reversibles, debido a fenómenos de envejecimiento y de pérdida de cristalinidad.

En la Figura 4.4.18 se muestra el comportamiento térmico de la muestra C-10MgP a los dos tiempos de degradación en comparación con el de la cinta sin degradar. De nuevo las  $T_g$  para los materiales degradados son mayores (Tabla 4.4.2), lo que vuelve a indicar que se produce un fenómeno de envejecimiento acelerado. Las muestras C-10MgP sin degradar no mostraban un pico aparente de cristalización en fundido debido a su alta cristalinidad intrínseca, sin embargo en las muestras degradadas el pico sí es apreciable. Esto desemboca en dos picos de fusión en las calorimetrías, donde el primero correspondería a cristales imperfectos que se han formado durante el calentamiento. La segunda fusión se produce ligeramente a más altas temperaturas a consecuencia de la rigidización de las cadenas. Tertyshnaya *et al.* [30] observan un comportamiento opuesto en el polímero después de inmersiones de 120 días, por lo que la rigidización en el caso de las muestras C-10MgP se asocia a la presencia de las partículas, que producen una disminución en la fluidez de las cadenas poliméricas.



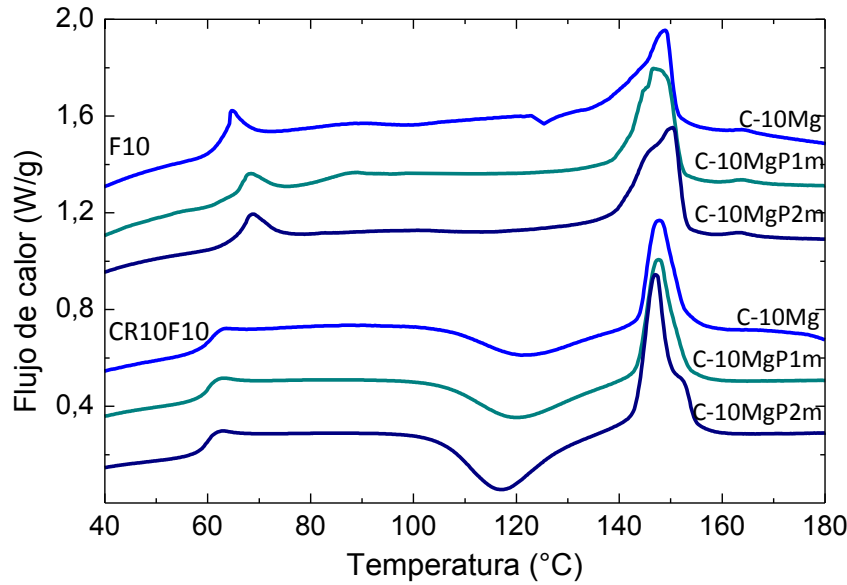


Figura 4.4.18. Curvas de calorimetrías de C-10MgP después de 0, 1 y 2 meses de degradación. Primer y segundo calentamiento.

En este caso, el segundo calentamiento sí muestra una variación en el polímero. Se produce un aumento de la cristalización en fundido, y el pico de  $T_{cc}$  se desplaza a menores temperaturas. Por otro lado, la  $T_m$  se mantiene a la misma temperatura (Tabla 4.4.3), aunque el material más degradado muestra un segundo pico de cristalización a más altas temperaturas. Estos cambios se asocian a una disminución del peso molecular del polímero, que en primer lugar origina mayores cristalizaciones debido a que la ruptura de cadenas favorece el crecimiento cristalino [31], [32]. Li *et al.* [33] asocian esta segunda fusión a un proceso de fusión-recristalización de oligómeros formados en la degradación del PLA que han fundido en la  $T_{m1}$  para después cristalizarse y volver a fundir en la  $T_{m2}$ .

En la Figura 4.4.19 se muestran los DSC del compuesto C-30MgP durante el primer y segundo calentamiento (F10 y CR10F10). Observamos un comportamiento similar al del caso de C-10MgP. En el primer calentamiento las  $T_g$  se sitúan a más altas temperaturas debido al envejecimiento y a la rigidización de las cadenas (Tabla 4.4.2), pero aquí hay una tendencia más evidente en el aumento de la  $T_{m2}$  y de la aparición de una  $T_{m1}$ , seguramente de cristales que se han formado durante el calentamiento ( $T_{cc}$ ). El aumento de la  $T_{m2}$  podría deberse a la degradación del Mg, el cual estaba recubierto de cristales de PLA debido a su efecto nucleante. Este aumento de  $T_{m2}$  podría deberse a que, una vez se ha degradado la partícula, esos cristales se liberan y funden a temperaturas más altas.

En el caso de la segunda fusión, el comportamiento es muy similar, al eliminar el historial térmico del material el envejecimiento ya no es apreciable. El aumento de la temperatura de cristalización en frío así como la disminución de la temperatura del proceso ya ha sido descrito anteriormente en la bibliografía [32] y se asocia a la ruptura de cadenas poliméricas, lo cual facilita su posterior cristalización. A mayores tiempos de degradación también observamos un doble pico de fusión asociado a la recristalización de oligómeros.

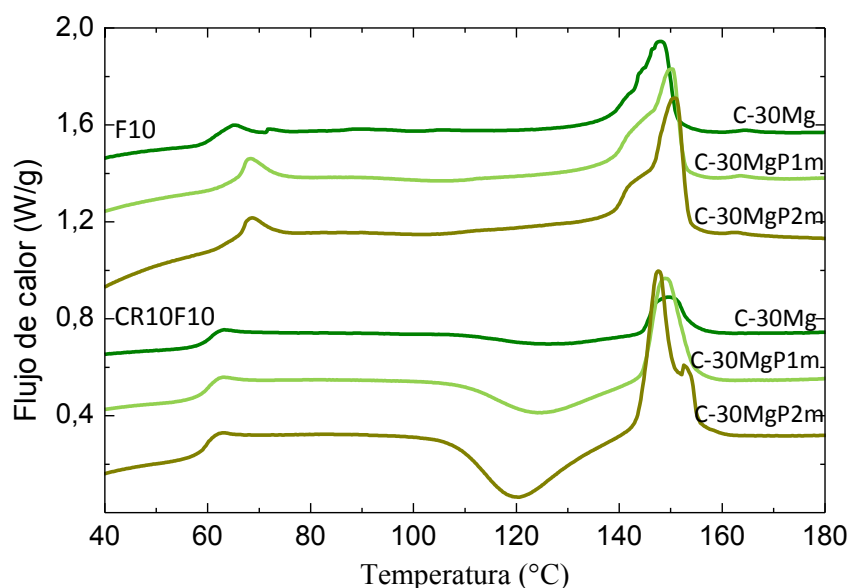


Figura 4.4.19. Curvas de calorimetrías de C-30MgP después de 0, 1 y 2 meses de degradación. Primer y segundo calentamiento.

Por tanto y en términos generales, y como puede observarse en la Tabla 4.4.2, el primer calentamiento de todos los materiales analizados muestra un aumento notable de la  $T_g$ , una disminución de la  $T_{cc}$  y un leve aumento de la  $T_m$  principal ( $T_{m2}$ ). Todo parece demostrar que la inmersión de los compuestos en PBS aumenta la rigidización de las cadenas como consecuencia principalmente del envejecimiento, produciendo los cambios en la  $T_g$  y  $T_{m2}$ . La disminución de la  $T_{cc}$  se puede relacionar con una posible disminución del tamaño de cadena que facilita su cristalización en frío.

Tabla 4.4.2 Parámetros térmicos del primer ciclo de calentamiento de los DSC (F10)

F10	$T_g$	$T_{cc}$	$T_{m1}$	$T_{m2}$
C-PLA	60	113	141	150
C-PLA (1 mes)	64	109	140	150
C-PLA (2 mes)	64	107	140	150
C-10MgP	62	-		149

C-10MgP (1 mes)	63	120	147	147
C-10MgP (2 mes)	66	114	146	150
C-30MgP	62	110		147
C-30MgP (1 mes)	65	105	142	149
C-30MgP (2 mes)	66	102	142	150

En cuanto al segundo calentamiento, cuyos parámetros se recogen en la Tabla 4.4.3, muestran  $T_g$  similares, una disminución de la  $T_{cc}$  y una leve disminución de la  $T_{m2}$ . La rigidización inicial de los materiales se eliminó junto con el historial térmico, por lo que no se observan variaciones en la transición vítrea. Sin embargo, la disminución de la  $T_{cc}$  se asocia de nuevo a una posible disminución del tamaño de cadenas, desaparecen las fusiones y recristalizaciones y únicamente se detecta una temperatura de fusión ligeramente inferior a la  $T_{m2}$  pero superior a la  $T_{m1}$

Tabla 4.4.3. Parámetros térmicos del segundo ciclo de calentamiento (CR10F10)

CR10F10	$T_g$	$T_c$	$T_{m1}$	$T_{m2}$
C-PLA	59	122		148
C-PLA (1 mes)	60	125		149
C-PLA (2 mes)	60	123		148
C-10MgP	59	122		148
C-10MgP (1 mes)	60	120		147
C-10MgP (2 mes)	60	117	147	152
C-30MgP	59	128		150
C-30MgP (1 mes)	60	125		149
C-30MgP (2 mes)	60	120	148	153

#### 4.4.1.3 Ensayos biológicos

El estudio de biocompatibilidad *in vitro* del material compuesto PLA/Mg en forma de cintas se realizó con células MEF (Mouse Embryonic Fibroblasts) debido a la potencial aplicación de estos materiales en la sustitución de tejidos epiteliales como apósitos [34]. En primer lugar, se evaluó la citocompatibilidad de los productos de degradación de las cintas después de 24 h de inmersión en DMEM. Este ensayo, conocido como ensayo indirecto, suele realizarse porque da una primera información sobre la biocompatibilidad de los materiales, o su posible toxicidad, eliminando factores como la rugosidad o la hidrofobicidad de su superficie. Posteriormente se realizó un ensayo

directo, donde se analiza el crecimiento celular sobre el material. Por último, ya que estos materiales son biodegradables, se llevó a cabo un ensayo de degradación en medio celular, y posteriormente un ensayo indirecto en el medio de degradación a diferentes tiempos de inmersión. La viabilidad y proliferación celular se estudió mediante ensayos WST-8, y la morfología de las células mediante la tinción de las membranas y sus núcleos con Vybrant® y DAPI.

La Figura 4.4.20 muestra la viabilidad celular determinada en los ensayos indirectos para las muestras procesadas con PEI, Figura 4.4.20a, y con CTAB, Figura 4.4.20b. Los valores de viabilidad se expresan tomando como material de referencia (100% de viabilidad) el poliestireno. Después de 24 h de incubación, la viabilidad celular en el medio que contiene los productos de degradación de los materiales compuestos es significativamente mayor que la viabilidad de los medios que proceden de la degradación del polímero puro (C-PLA). En el caso de las partículas de Mg tratadas con PEI, Figura 4.4.20a se observa que la adición de un 5% de Mg no afecta significativamente el crecimiento celular de los fibroblastos. Sin embargo, los productos de degradación de las muestras que contienen mayores contenidos en Mg (C-10MgP, C-30MgP, C-50MgP) revelan un aumento de la viabilidad de hasta un 125%. Las diferencias encontradas entre estas muestras no son estadísticamente representativas. En el caso de la degradación de materiales que contiene las partículas de Mg tratadas con CTAB, Figura 4.4.20b, se observa que un 5% de Mg es suficiente para que haya un aumento significativo en la proliferación (hasta ~125%). Como en el caso anterior, las diferencias en viabilidad celular de las muestras con contenidos en Mg entre el 5 y el 50 % de Mg no son estadísticamente significativas.

Estos resultados indican que la degradación de los materiales investigados a las 24h de inmersión, no producen citotoxicidad ya que la viabilidad celular en estos medios es mayor del 75% [35], independientemente del contenido en Mg. Al contrario, los productos de degradación producen un aumento de la proliferación celular con respecto al medio DMEM puro, particularmente cuando contienen iones de magnesio. Este fenómeno ya ha sido reportado en la bibliografía, y se ha demostrado que los iones de Mg promueven la adhesión y la proliferación de los osteoblastos *in vitro* [36] así como de fibroblastos [37], donde se observa un aumento de la viabilidad celular de hasta un 110% para aleaciones ZK60 modificadas.

En relación con los efectos inducidos en la viabilidad celular por el uso del PEI y del CTAB como dispersantes de las partículas, únicamente se observa una diferencia significativa en las muestras que contienen un 5% Mg (C-5MgP y C-5MgC). Los valores más altos de viabilidad celular encontrados para las muestras tratadas con CTAB deben de estar relacionados con una degradación más rápida del material, tal y como se pone de manifiesto en los ensayos de liberación de hidrógeno de estas muestras (Sección 4.4.1.2), que proporciona una mayor cantidad de iones  $Mg^{2+}$  al medio y que favorecería el crecimiento celular [37].

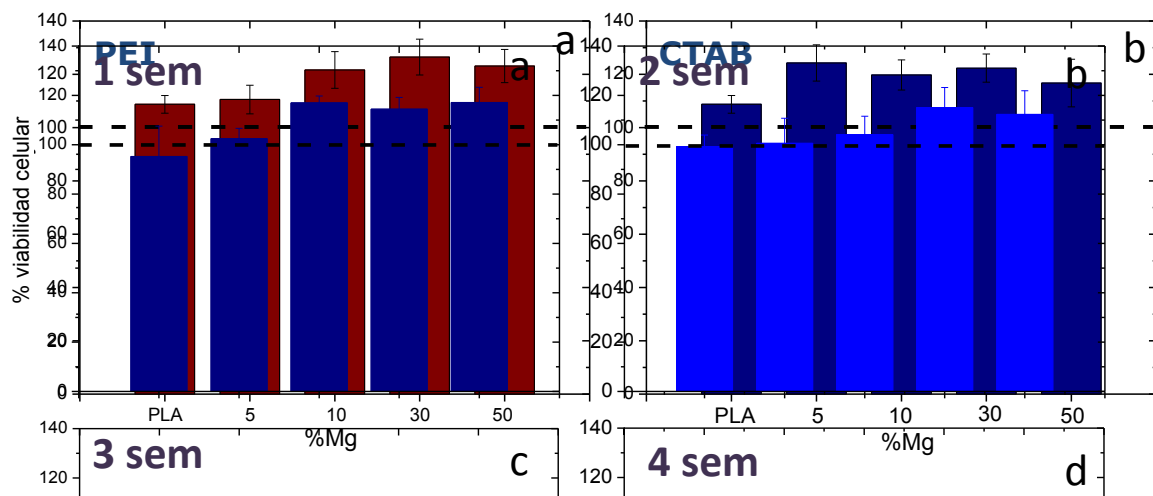


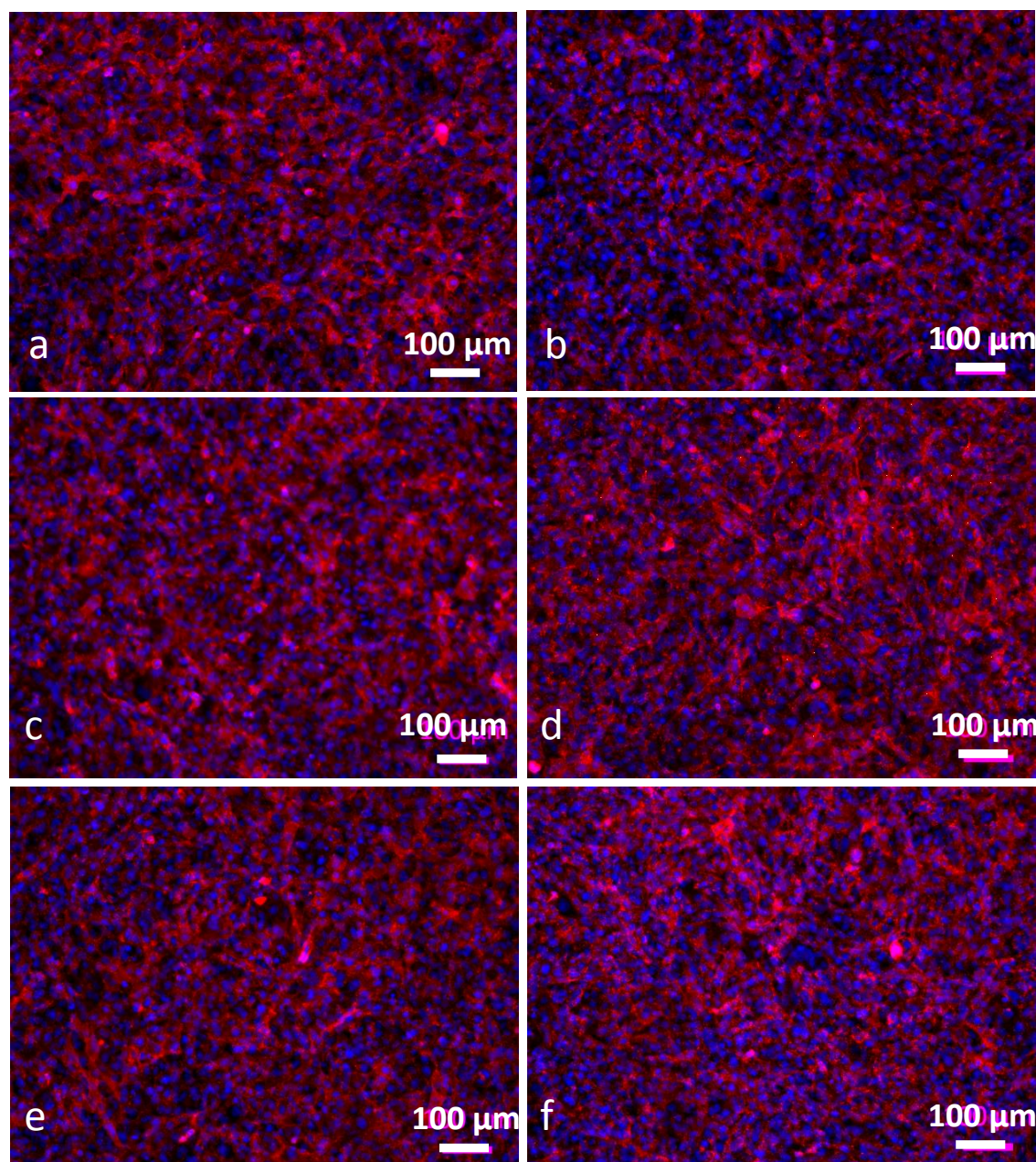
Figura 4.4.20. Viabilidad celular de los extractos de degradación de las muestras C-PLA, C-5Mg, C-10Mg, C-30Mg, C-50Mg sumergidas en DMEM durante 24 horas, para los materiales procesados con PEI (a) y para los materiales procesados con CTAB (b).

Para estudiar la morfología de las células y su viabilidad, estas se han teñido con dos marcadores diferentes, Vybrant y DAPI. El Vybrant, que colorea las células vivas y tiene una baja toxicidad, permite estudiar la integridad de la membrana celular así como la densidad y la distribución de las células. El DAPI (4',6-diamino-2-fenilindol) es un marcador de ADN que se utiliza, a diferencia del Vybrant, con células fijadas y permite estudiar la integridad de los núcleos celulares. Por tanto, las células coloreadas (rojas) son las células vivas, mientras que los núcleos coloreados (azules) corresponden a todas las células, vivas o no.

La Figura 4.4.21 muestra la morfología de las células MEF después de ser incubadas durante 24h en DMEM (control) y en los extractos de las muestras C-PLA, C-5Mg, C-10Mg, C-30Mg y C-50Mg procedentes de materiales con partículas de Mg acondicionadas con PEI o con CTAB. La Figura 4.4.21a revela los resultados para la muestra control donde las células han proliferado considerablemente en una monocapa



y se han adherido a la superficie de la placa, ocupando todo el espacio sin dejar huecos entre ellas. La densidad y la morfología de los fibroblastos cultivados en los diferentes extractos, Figura 4.4.21a y b, es tan alta como en el caso del control. Sin embargo, pueden apreciarse leves diferencias, como en el caso de la muestra C-PLA (Figura 4.4.21b), donde parece haber una disminución de las células vivas con respecto a los otros compuestos, debido a la disminución del marcador rojo en la imagen. Esto apoyaría los resultados obtenidos en los ensayos con WST-8, donde se evidencia que el Mg es el que potencia la proliferación celular con respecto a la muestra de referencia.





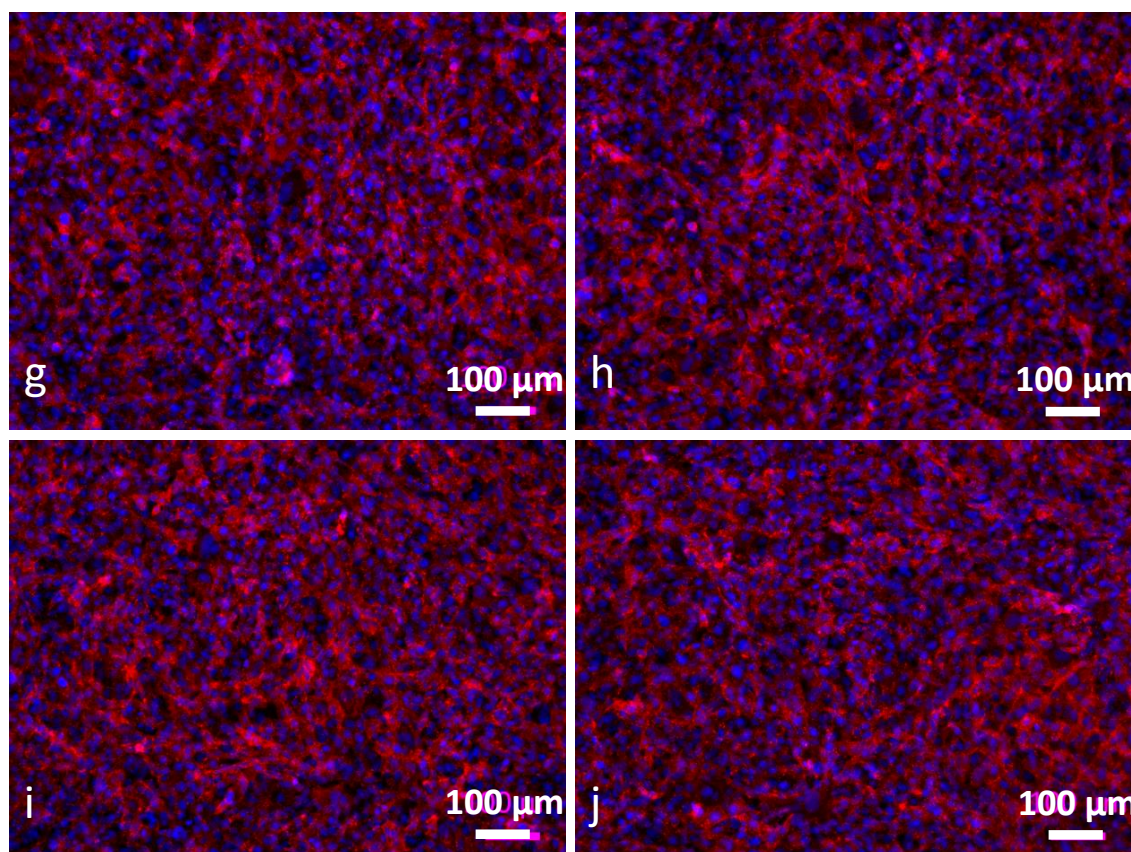


Figura 4.4.21. Imágenes de microscopía que revelan la morfología de las células MEF cultivadas como control (a) y con los extractos de degradación de muestras de C-PLA (b) y muestras de cintas de materiales compuestos PLA/Mg procesadas con 5% Mg (c,d), 10% Mg (e,f), 30% Mg (g,h), y 50% Mg (i,j), estando las partículas de Mg acondicionas con PEI (c,e,g,i) o CTAB (d,f,h,j).

En la Figura 4.4.8 se presentaba la liberación de hidrógeno de las cintas de PLA y PLA/Mg en función del tiempo de inmersión en una solución estándar de PBS. Del análisis de las curvas se deduce que la degradación de las cintas comienza al inicio de la inmersión y se prolonga, en algunos casos, más de dos meses. Por ello se llevó a cabo un ensayo indirecto de proliferación celular utilizando los extractos de las muestras C-PLA, C-5MgP, C-10MgP, C-30MgP y C-50MgP correspondientes a tiempos de degradación de 1, 2, 3 y 4 semanas. Este ensayo, más específico, se realizó únicamente con las muestras dispersadas con PEI debido a que son en las que se midió la liberación de hidrógeno.

En la Figura 4.4.22 se muestra los valores de viabilidad celular en los extractos de cada material, referidos al material utilizado como control (100%), en función del tiempo de degradación. Los extractos procedentes de las muestras de PLA muestran, durante las tres primeras semanas, valores equivalentes a la muestra control. Sin embargo, a la cuarta semana se observa una ligera disminución de la viabilidad (90%), que no

compromete su biocompatibilidad por estar por encima del valor de 75%. En el caso de las muestras de PLA/Mg, durante las dos primeras semanas, la viabilidad aumenta al aumentar el contenido en Mg. Para los tiempos de inmersión más largos, la viabilidad celular de estas muestras no refleja diferencias estadísticamente significativas. Conviene recordar que para estas muestras los valores están siempre por encima del de referencia. Por tanto, ninguno de los compuestos presentan citotoxicidad y sus productos de degradación promueven la proliferación celular en las primeras tres semanas de degradación.

Gu *et al.* [38] demuestran que después de 2 días de degradación de Mg puro, la viabilidad celular en los extractos para dos tipos de fibroblastos es menor que para el control, lo cual se asocia a una alta concentración de iones  $Mg^{2+}$  que puede precipitar como  $Mg(OH)_2$  y aumentar el pH del medio. Nguyen *et al.* [39] estudian la morfología y la adhesión celular al añadir al medio diferentes concentraciones de Mg y demuestran que una alta concentración de iones de Mg produce un cambio negativo, tanto en la morfología como en la adhesión, y estipulan que 10 mM (240 mg/L) puede servir como un valor umbral crítico para el diseño y desarrollo de implantes y andamios de Mg (*scaffolds*), aunque otros autores no observan toxicidad en ese valor umbral [40]. En el caso de las cintas de PLA/Mg, la máxima concentración de Mg detectada en el medio es de 14 mg/L, que corresponde a la muestra de mayor contenido de Mg (C-50MgP). Este valor es muy inferior al umbral mencionado anteriormente, lo que explica que muestren una mayor viabilidad al estar en contacto con bajas concentraciones de Mg. Esto ocurre incluso para el caso de 4 semanas de degradación (Figura 4.4.22d), con un alto grado de degradación de las cintas.

Por otro lado, el comportamiento de la muestra C-PLA es diferente al del resto de compuestos. En las primeras tres semanas de inmersión (Figura 4.4.22a, b y c) no se observan diferencias significativas en la viabilidad celular con respecto al control, asociado a baja velocidad de degradación del polímero [41]. En el caso de las 4 semanas de inmersión, observamos una leve disminución de la proliferación celular (Figura 4.4.22d) asociada a la hidrólisis del PLA. Este fenómeno, que es neutralizado con la degradación del Mg que aumenta el pH del medio, produce un aumento de grupos ácidos que disminuyen el pH del medio DMEM [27].



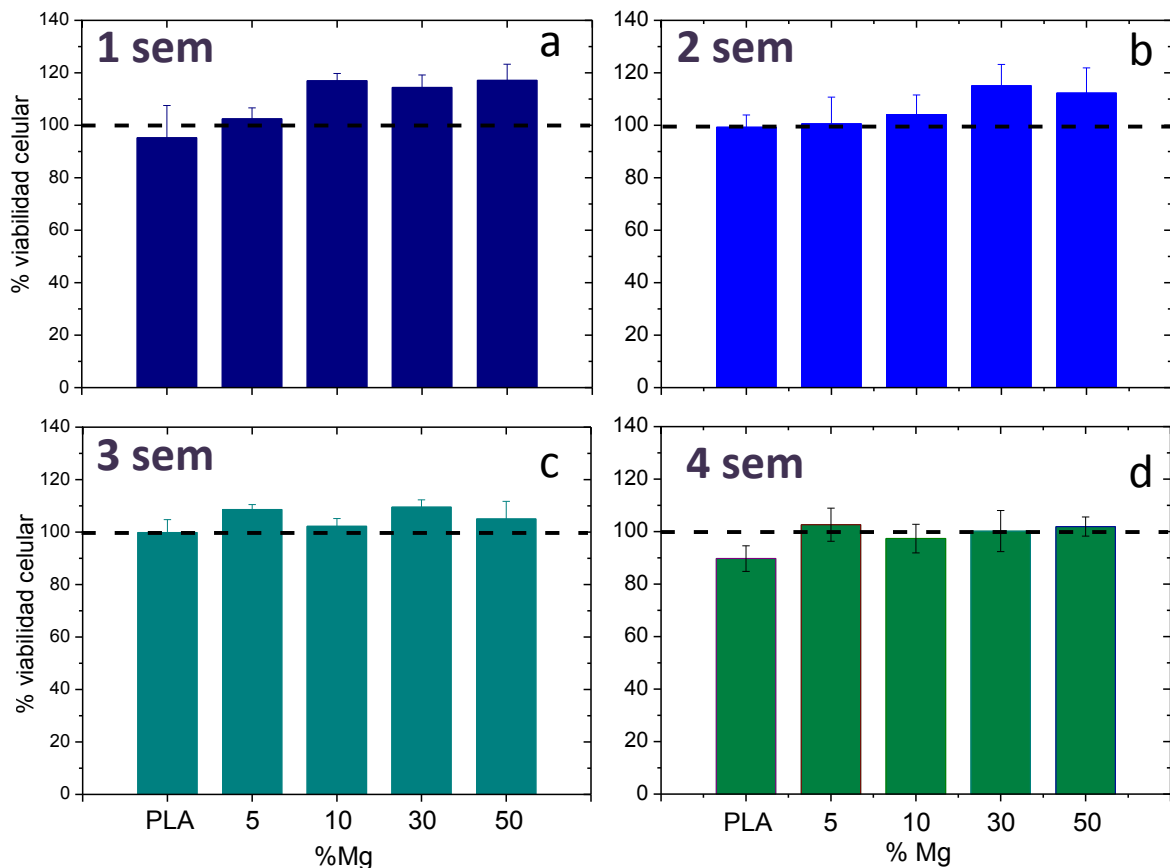
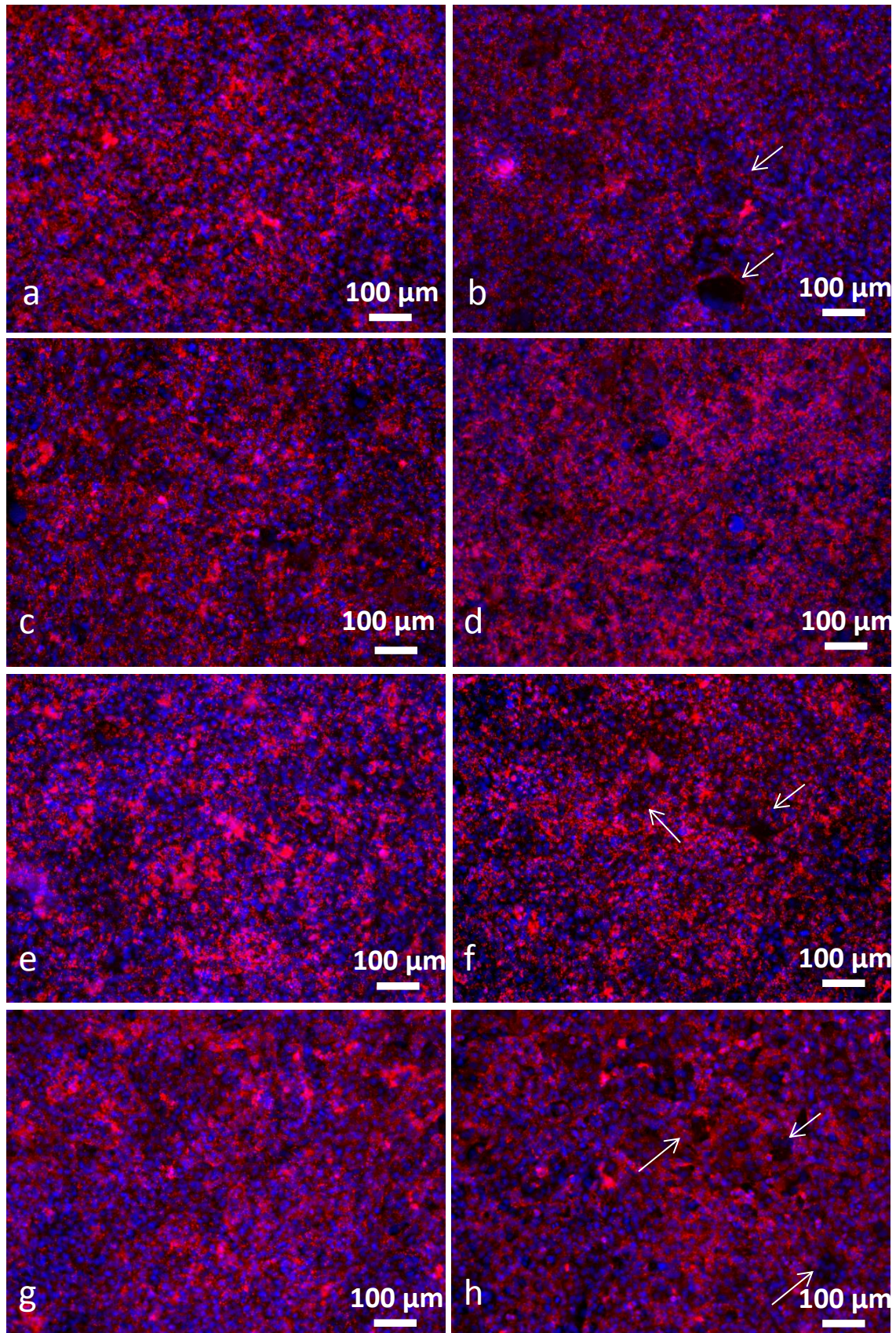


Figura 4.4.22. Viabilidad celular de los extractos de degradación de las muestras de PLA y cintas de materiales compuestos PLA/Mg con contenidos en Mg del 5, 10, 30, y 50%, estando las partículas de Mg acondicionas con PEI.

Como se mencionó anteriormente, las células se colorearon mediante Vybrant y DAPI para evaluar las posibles diferencias en su morfología con los productos de degradación de los compuestos. La Figura 4.4.23 muestra las células después de 24 h de cultivo en los medios de degradación de C-PLA a una (a) y cuatro semanas de degradación (b), C-5MgP a una (c) y cuatro semanas de degradación (d), C-10MgP a una (e) y cuatro semanas de degradación (f), C-30MgP a una (g) y cuatro semanas de degradación (h), C-50MgP a una (i) y cuatro semanas de degradación (j).

En las imágenes se observa un comportamiento similar al estudiado mediante WST-8. En el medio de una semana de degradación de las cintas de PLA/Mg, las células se presentan en una monocapa y ocupan todo el espacio disponible. Después de 4 semanas de inmersión, sin embargo, las células proliferan dejando algunos huecos, donde no se han adherido o donde no están vivas. En el caso de los extractos de las muestras de PLA, la primera semana presentan una proliferación similar a la de referencia (Figura

4.4.21) mientras que en la cuarta semana, se observan de nuevo huecos durante la proliferación celular.





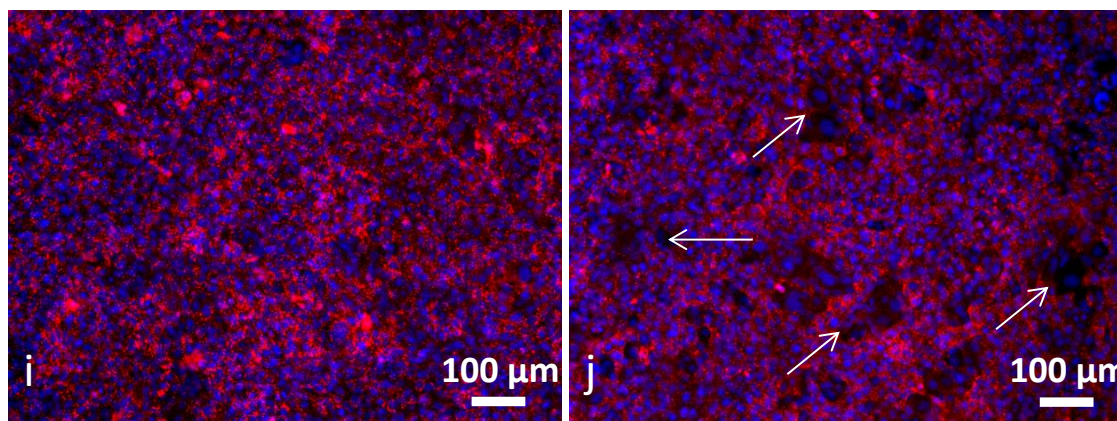


Figura 4.4.23. MEF cultivadas en los extractos de degradación de C-PLA a una (a) y cuatro semanas de degradación (b), C-5MgP a una (c) y cuatro semanas de degradación (d) , C-10MgP a una (e) y cuatro semanas de degradación (f) , C-30MgP a una (g) y cuatro semanas de degradación (h) , C-50MgP a una (i) y cuatro semanas de degradación (j) marcados con Vybrant y DAPI.

Una vez se analizó el comportamiento celular en presencia de los productos de degradación de los compuestos y se comprobó la no toxicidad de estos productos, se continuó con un ensayo directo de viabilidad celular. En este caso, la proliferación celular depende de los mismos factores que en los ensayos indirectos, pero también de las propiedades superficiales de las cintas, como la rugosidad o el ángulo de contacto.

En la Figura 4.4.24 se muestra la viabilidad celular relativa al control, medida mediante el ensayo WST-8 después de 24h de crecimiento celular sobre las cintas de PLA y PLA/Mg procesadas con partículas de Mg modificadas con PEI o CTAB. Para todas las cintas compuestas se observa un aumento significativo de la viabilidad en comparación con el PLA puro, lo cual refleja el efecto del Mg sobre el aumento del crecimiento celular encontrado en los ensayos indirectos (Figura 4.4.20). Para un mismo contenido en Mg, no se aprecian diferencias significativas entre el uso de PEI o CTAB. En ambos casos, Figura 4.4.24a y b, se observan diferencias entre los contenidos de Mg de modo que los compuestos C-5MgP, C-10MgP y C-30MgP producen un aumento claro de la viabilidad mientras que C-50MgP no presenta diferencias significativas con respecto al C-PLA.

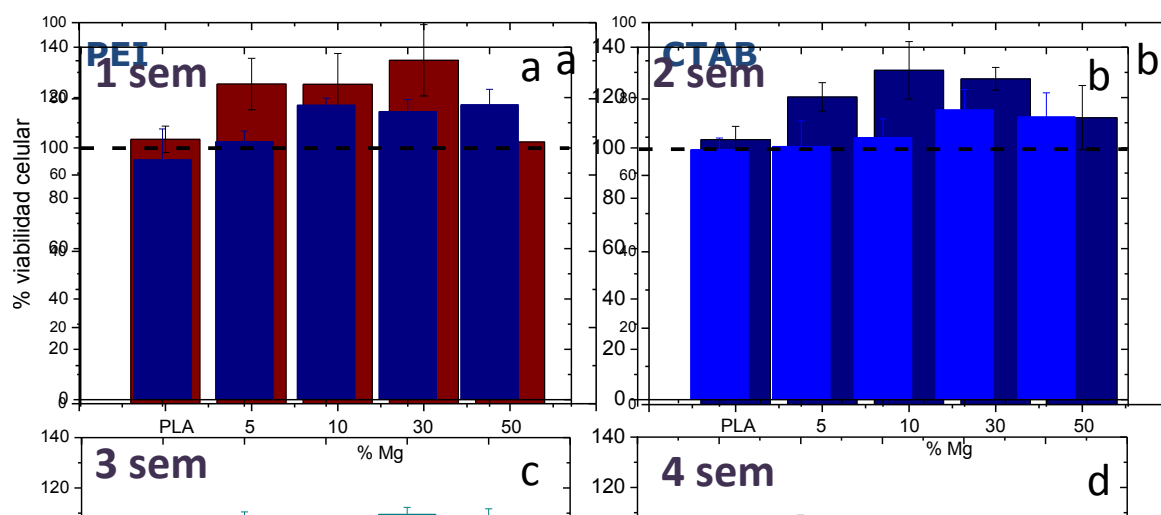
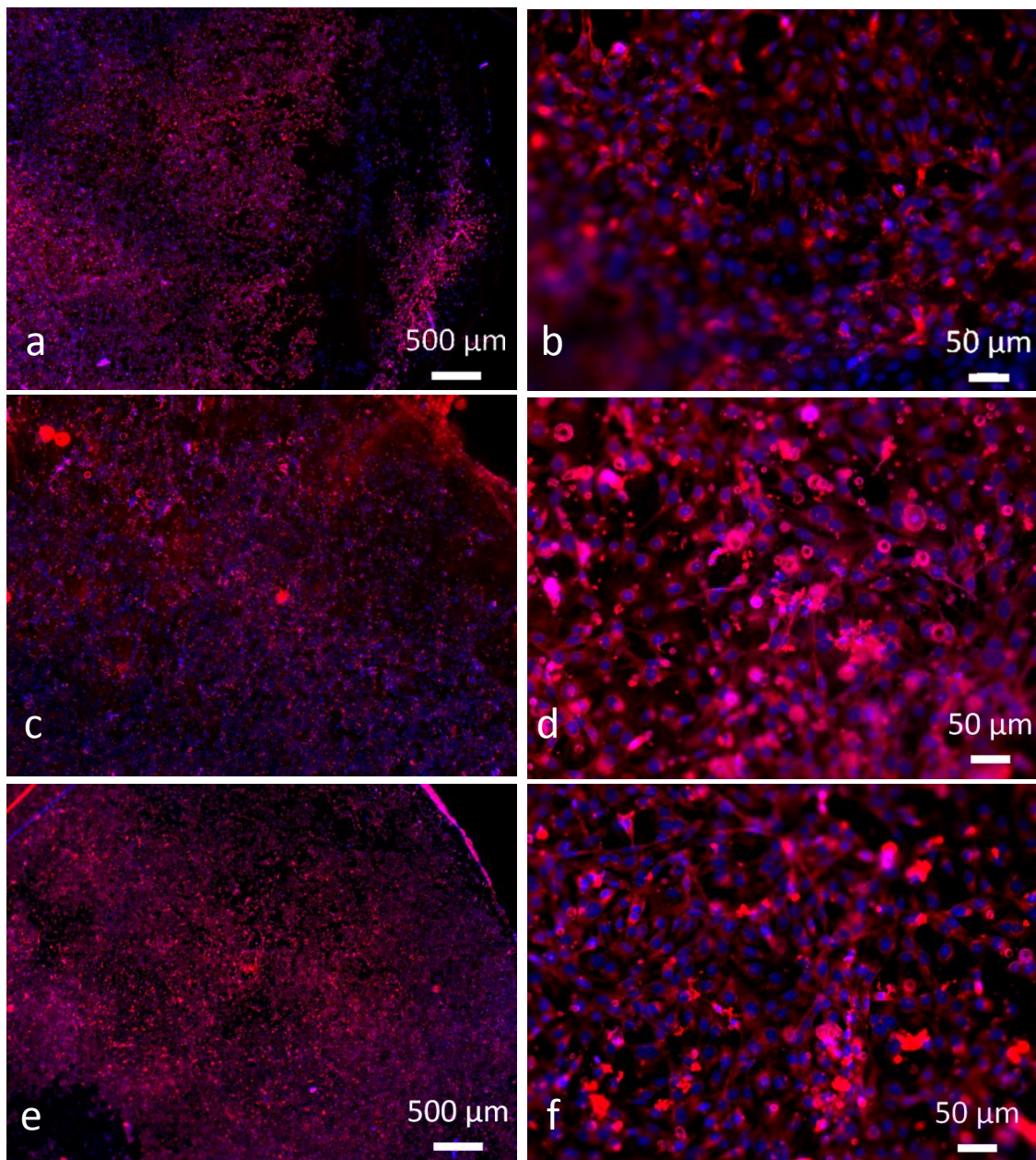


Figura 4.4.24. Viabilidad celular evaluada mediante WST-8 de las cintas C-XMgP (a) y C-XMgC (b) (X: 0, 5, 10, 30, 50)

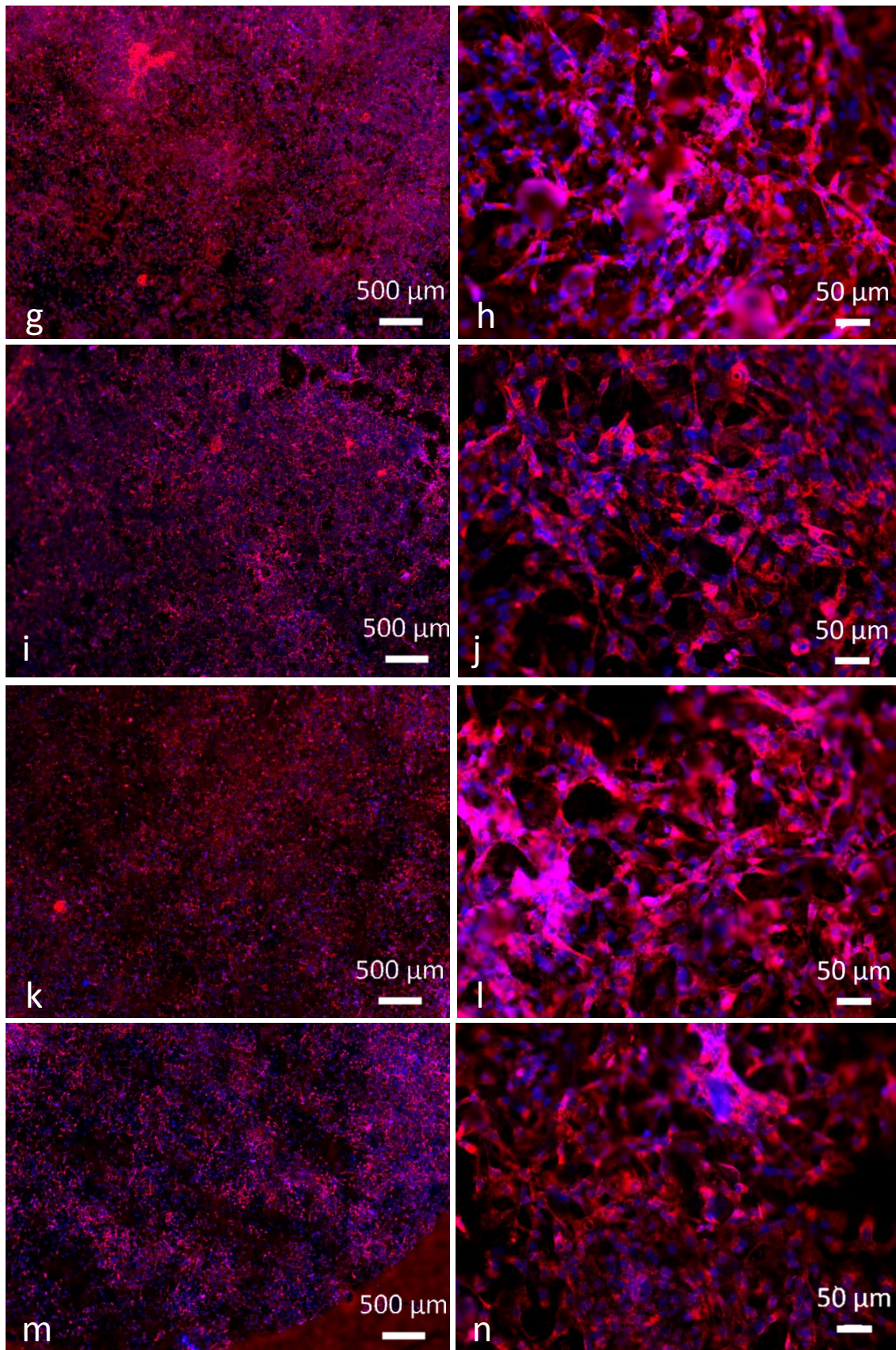
Por último, se evaluó la morfología y la adhesión celular en las diferentes cintas mediante el marcado con Vybrant y DAPI. Las imágenes de fluorescencia se muestran en la Figura 4.4.25 a dos aumentos para estudiar cómo se han distribuido las células por la superficie y cómo se presentan adheridas a la misma sobre las cintas C-PLA, C-5MgP, C-5MgC, C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP, C-30MgC, C-50MgP y C-50MgC.

En la Figura 4.4.25a y b observamos el crecimiento celular en las cintas de PLA. Las células ocupan prácticamente toda la muestra, exceptuando las esquinas debido a que allí la cinta se ha deformado, plegándose desde los extremos hacia el centro durante la inmersión, lo que ha ocasionado una aglomeración de células muertas en esa área. Los fibroblastos presentan su morfología fisiológica común, comparado con el control (Figura 4.4.21), en una monocapa y sin indicios de liberación de componentes tóxicos que se observaría con una disminución en la densidad de fibroblastos. Para el caso de las muestras con un 5% de Mg, C-5MgP, Figura 4.4.25c,d, y C-5MgC, Figura 4.4.25e y f, las cintas presentan una distribución celular muy similar, homogénea en la superficie de ambos compuestos, por lo que se puede decir que producen una superficie estable para la adhesión celular. Lo mismo sucede con las muestras con un contenido de 10 y 30% de Mg (C-10MgP, C-10MgC, C-30MgP, C-30MgC, Figura 4.4.25g, h, i, j, k, l, m, n), en las que se observa un aumento de la densidad de los fibroblastos con respecto a las cintas de menor contenido. Esto se asocia al aumento de la carga de Mg en las cintas, que como se observó en la Figura 4.4.20 produce un aumento en la viabilidad celular.

Otro fenómeno asociado a la mejora de la viabilidad celular y más en concreto de la adhesión celular, es la rugosidad [42], por lo que el aumento de la rugosidad asociado al aumento de la carga en las cintas de PLA también se relaciona con el aumento de la viabilidad celular. Sin embargo, en las Figura 4.4.25h, j, l y n observamos cierto desenfoque de los fibroblastos debido a su crecimiento en el eje z. Este fenómeno de crecimiento suele deberse a una falta de adhesión celular, donde la proliferación celular no es preferencialmente sobre el biomaterial dando lugar a *cluster* o aglomerados de células [43]. En el caso de las cintas de PLA/Mg, no se observa la formación de aglomerados de células, sino que todas se adhieren a la superficie de manera homogénea, por lo que este crecimiento singular se asocia a la alta proliferación celular.









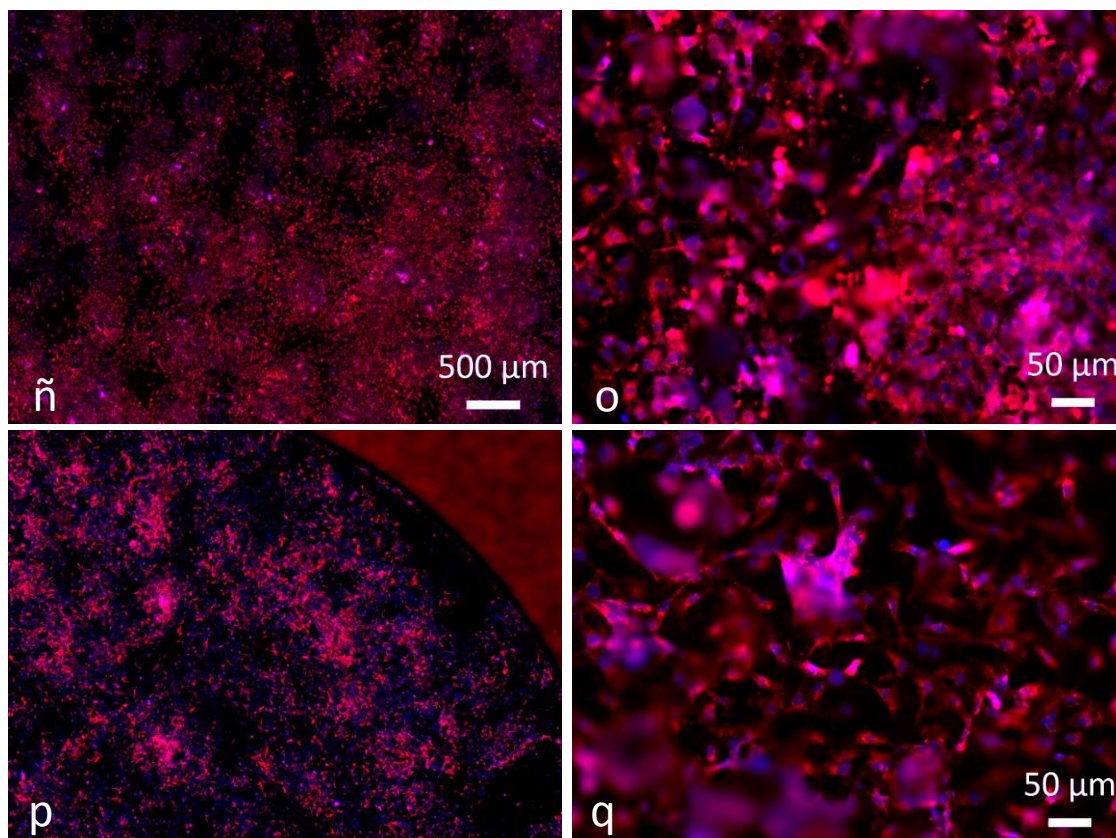


Figura 4.4.25. Proliferación de las células MEF durante 24h sobre las cintas C-PLA (a,b) del C-5MgP (c,d) del C-5MgC (e,f) del C-10MgP (g,h) del C-10MgC (i,j) del C-30MgP (k,l) del C-30MgC (m,n) del C-50MgP (ñ,o) y del C-50MgC (p,q) marcados con Vybrant y DAPI.

Por último, se analizó el crecimiento celular en las cintas con un 50% de Mg, C-50MgP y C-50MgC (Figura 4.4.25ñ, o, p, q). En este caso, sí se observa una disminución del crecimiento celular en la superficie de las cintas, y de la adhesión celular. Se produce aglomeración de partículas y zonas de la cinta donde no hay adhesión. Este fenómeno está relacionado con la alta cantidad de Mg, que aunque no produce citotoxicidad, produce en las primeras 24 h una mayor liberación de  $H_2$  (como se observó en la Figura 4.4.8 -  $0,08 \text{ ml/cm}^2$ ) que en el caso de menores contenidos de Mg. En la Figura 4.4.26 se compara una micrografía de la superficie de la cinta C-50MgC con la proliferación celular sobre ella después de 24h de cultivo. Se observa que los espacios de la cinta libres de células coinciden en tamaño en varios casos con los aglomerados de partículas de Mg, que pueden ocasionar un foco de mayor liberación de  $H_2$  que desprenda los fibroblastos de la superficie del compuesto.

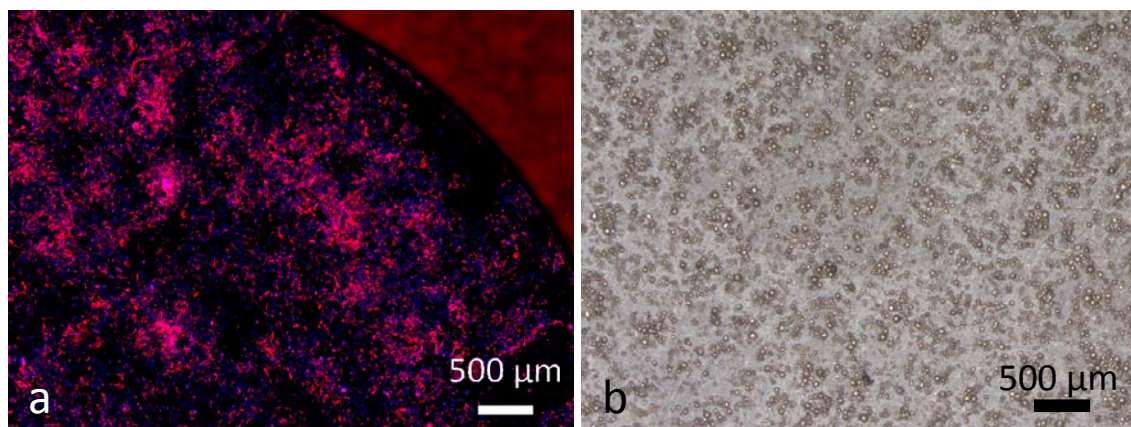


Figura 4.4.26. Micrografía de la superficie de la cinta C-50MgC con la proliferación celular sobre ella después de 24h de cultivo (a) y una micrografía de la superficie sin células (b).

Del análisis anterior se deduce que, en las cintas de PLA/Mg, la proliferación celular en los ensayos directos depende de varios factores: (i) de la cantidad de carga de Mg, cuyos productos de degradación aumenta la viabilidad celular de los compuestos (Figura 4.4.20), (ii) de la rugosidad que este aumento de carga produce [42] y (iii) de la liberación de hidrógeno de los compuestos.

Las aleaciones de Mg ya han sido estudiadas para aplicaciones en osteointegración y reparación ósea, dando muy buenos resultados en ensayos celulares con osteoblastos [44], [45]. Khalajabadi *et al.* [46] observan en compuestos Mg/HA/MgO una viabilidad de 60-70% en osteoblastos.

La buena proliferación de los fibroblastos en las cintas de PLA/Mg en relación con las de PLA refuerza los buenos resultados obtenidos con células osteoblásticas obtenidos en muestras solidas de materiales similares procesados por moldeo por extrusion [47]. Conviene resaltar que en el primer caso las cintas contienen hasta un 50 % de Mg, mientras que en el segundo caso contenidos en Mg superiores al 15% de Mg no ofrecían ventajas competitivas debido a un aumento de la degradación térmica del polímero durante el procesado. Este hecho viene a destacar las ventajas de la utilización de las técnicas coloidales para la preparación de los compuestos de PLA/Mg.

Resulta relevante para este estudio que la liberación de  $Mg^{2+}$  promueve la formación de colágeno y angiogénesis en las heridas de la piel [48], lo que ofrece una oportunidad para la aplicabilidad de los cintas de PLA/Mg en este campo.



## 4.4.2 Piezas densas de PLA/Mg termoprensadas

### 4.4.2.1 Propiedades mecánicas de piezas densas de PLA/Mg

Una vez se analizaron las cintas compuestas, se estudiaron los materiales procesados por termopresión, cuya caracterización físico-química ya se llevó a cabo en el capítulo 4.3. En primer lugar, se presentarán los resultados de propiedades mecánicas, que debido a su aplicación final y al tipo de muestra procesada, se evaluaron mediante ensayos a compresión. Estos se realizaron sobre probetas cilíndricas de M-PLA, M-10MgP y M-30MgP. En esta caracterización mecánica, se evaluarán además las diferencias ocasionadas por el uso del mezclado coloidal en comparación con el mezclado por extrusión, la técnica más utilizada para el procesamiento de compuestos polímero-inorgánico. La muestra a comparar será la M-10MgP, con la obtenida mediante extrusión M-10Mgext, cuyo procesamiento se especifica en la parte experimental. Cabe destacar que como se describió en el capítulo 4.3, los materiales no son capaces de cristalizar desde el fundido, por lo que se parte de la premisa de que la fracción cristalina no es un factor condicionante de las propiedades mecánicas.

La Figura 4.4.27 muestra curvas representativas de esfuerzo-deformación de los ensayos de compresión realizados para cada compuesto de PLA/Mg y para el M-PLA como referencia. Como se puede observar, las curvas indican un mecanismo de deformación similar para todos los materiales, que consiste en una deformación inicial reversible elástica que alcanza un valor máximo, definido como punto de fluencia. Después de este valor de tensión, se produce una pérdida de la resistencia a la compresión para posteriormente producirse un evidente endurecimiento por deformación en las probetas no frágiles conforme aumenta la tensión. La probeta de mayor contenido en Mg, M-30MgP, no experimenta este endurecimiento, seguramente debido a la fragilidad de la matriz por el alto contenido en carga. Esto produce un colapso del material y su posterior fallo, lo que se representa como una pérdida de tensión a partir del punto de fluencia.

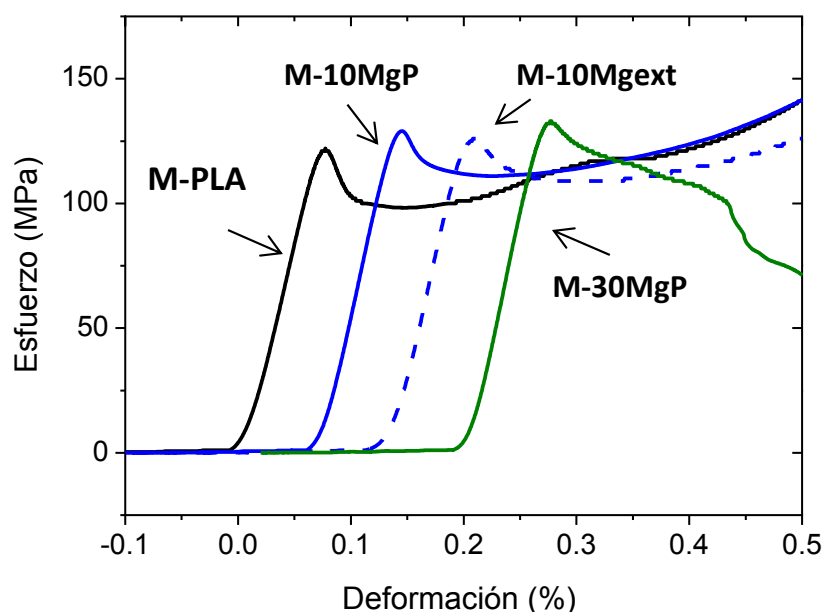


Figura 4.4.27. Ejemplos representativos de las curvas esfuerzo-deformación para las muestras M-PLA, M-10MgP, M-10Mgext y M-30MgP

La Tabla 4.4.4 y la Figura 4.4.28 resumen los valores promedio de módulo elástico y de resistencia máxima a compresión de los materiales analizados M-PLA, M-10MgP, M-10Mgext y M-30MgP junto con los errores de medida. La incorporación de partículas de Mg en PLA en las probetas coloidales no produce ningún efecto sobre la resistencia máxima a compresión del compuesto cuando se carga el polímero con 10% en peso. Por lo tanto, estos materiales parecen ofrecer la misma resistencia a la compresión en la zona elástica que el material de partida. La probeta compuesta M-30MgP, sin embargo, presenta un aumento moderado de este valor.

Tabla 4.4.4. Valores de módulo elástico y resistencia máxima a compresión de las probetas M-PLA, M-10MgP, M-10Mgext y M-30MgP.

	Módulo elástico (MPa)	Resistencia máxima a compresión (MPa)
M-PLA	1960±20	125±4
M-10MgP	2010±20	125±3
M-10Mgext	1900±100	123±5
M-30MgP	2150±20	130±3

En cuanto al módulo de Young, si se consideran únicamente las probetas coloidales (M-PLA, M-10MgP y M-30MgP) se observa un aumento significativo en el módulo elástico con el aumento de la carga de Mg, por lo que se produce una mejora de las propiedades mecánicas en este término. Con la adición del 30% de Mg, el aumento es

de un 9% en el caso del módulo y un 4% en el caso de la resistencia a compresión. Aun así, este aumento no es comparable con el conseguido mediante la adición de otro tipo de cargas estudiadas en la bibliografía como la hidroxiapatita (partículas micrónicas), donde se ha llegado a lograr un aumento de un 16 y 35% en el módulo y la resistencia a deformación respectivamente con la misma cantidad de carga (30% en masa) [49]. Se espera que se establezcan mayores diferencias en las propiedades mecánicas cuando se lleven a cabo ensayos a velocidades de deformación menores [24].

En cuanto a la comparación entre el mezclado por suspensiones o por extrusión, el resultado que más llama la atención es la dispersión de valores que presenta la muestra M-10Mgext, sobretodo en el módulo como en la tensión máxima, mucho mayor que el observado en las probetas coloidales. Este efecto se puede atribuir a la dispersión de la carga en la matriz. Si la distribución de Mg es homogénea, todas las probetas ensayadas tendrán una dispersión parecida y es de esperar que den resultados muy similares, como es el caso de las coloidales, dispersadas con PEI en este estudio. En las probetas mezcladas mediante extrusión, la mezcla se realiza en estado fundido, donde la viscosidad del compuesto es muy alta como para poder asegurar su correcta distribución y la ausencia de aglomeración del Mg. La resistencia máxima muestra una ligera disminución en la probeta M-10Mgext (Figura 4.4.28), al igual que el módulo elástico. Esto además sugiere que el anclaje producido entre PLA-PEI-Mg produce, aun siendo leve, una mejora de las propiedades mecánicas del material.

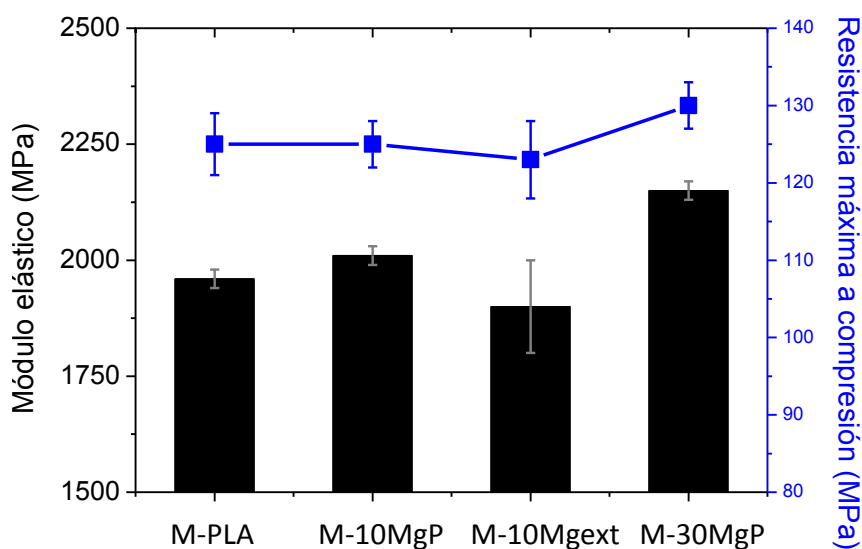


Figura 4.4.28. Representación del módulo elástico y de la resistencia máxima a compresión junto con su desviación de los materiales M-PLA, M-10MgP, M-10Mgext y M-30MgP.

#### 4.4.2.2 Caracterización *in vitro* de piezas densas de PLA/Mg

Para analizar el comportamiento a degradación de los materiales en forma de cilindros, se llevaron a cabo ensayos de inmersión en medio PBS durante 1 mes. En primer lugar se realizaron los ensayos de liberación de hidrógeno como se muestra en la Figura 4.4.29, donde se mide la acumulación de gas  $H_2$  debido a la reacción del Mg con el agua frente al tiempo, de las probetas M-10MgP y M-30MgP. Al igual que en la caracterización mecánica, la probeta M-10MgP se comparará con la probeta M-10Mgext con el fin de evaluar las dos técnicas de mezclado utilizadas para su procesado, la técnica coloidal y la extrusión.

En la figura se observa que el comportamiento a degradación es prácticamente lineal para ambas probetas aunque la probeta del 30% parece experimentar una leve estabilización de la liberación entre los días 16 y 20 y el *plateau* al final del ensayo. Por otro lado, la muestra con mayor contenido en magnesio (M-30MgP) libera una mayor cantidad de gas frente al tiempo de inmersión y al final del ensayo su hidrógeno acumulado es considerablemente mayor, siendo para la muestra M-10MgP de 3,6  $ml/cm^2$  y para M-30MgP de 16,0  $ml/cm^2$ .

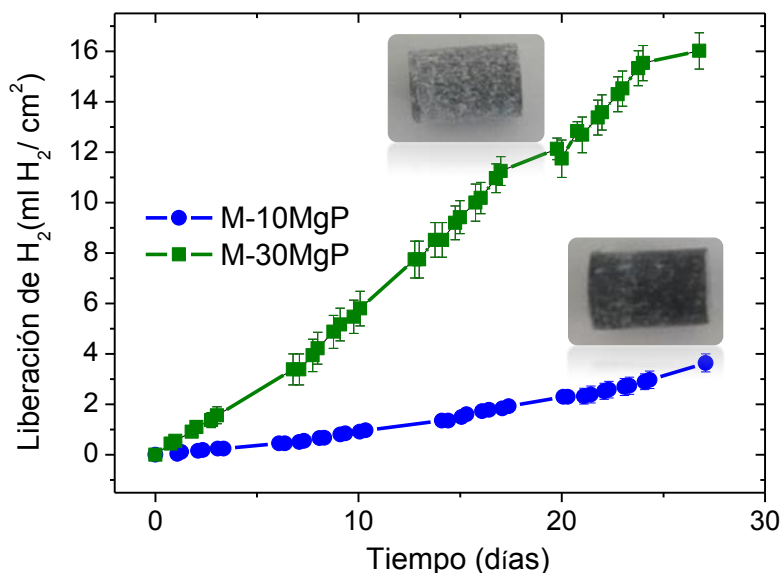


Figura 4.4.29. Liberación de hidrógeno para las probetas cilíndricas M-10MgP y M-30MgP. Imágenes de las dos probetas analizadas después de una semana de inmersión.

Si se asume que la corrosión o degradación de las probetas es directamente proporcional a la superficie de las partículas expuestas en la matriz, y que la relación entre la liberación de  $H_2$  de M-30MgP/M-10Mg será igual a la relación entre las superficies de

las partículas embebidas,  $S_{30}/S_{10}$  al ser las mismas partículas, la relación de superficies es igual a la relación de los volúmenes de la fase inorgánica que es de 3. Por lo tanto la liberación de  $H_2$  acumulado para las probetas, no es proporcional a la superficie de las partículas de Mg lo que demuestra que el proceso de corrosión en los cilindros es autocatalítico

En cuanto a la comparación de las probetas M-10MgP y M-10Mgext, se puede observar en la Figura 4.4.30 que existen diferencias significativas en términos de liberación de hidrógeno. En primer lugar, cabe destacar el error de las medidas de la muestra que se ha extruido, que al igual que en la caracterización mecánica, es mucho mayor que la obtenida en las muestras coloidales. De nuevo este fenómeno se asocia con una falta de homogeneidad en la distribución de la carga en las muestras, lo que origina la variación de la cantidad de Mg en las probetas cilíndricas extruidas y por tanto un mayor error en las medidas del hidrógeno acumulado.

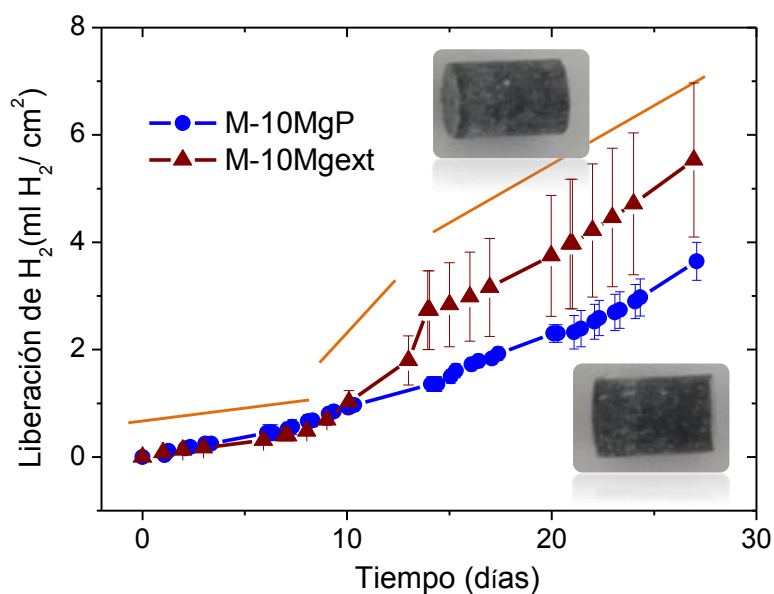


Figura 4.4.30. Liberación de hidrógeno para las probetas cilíndricas M-10MgP y M-10Mgext. Imágenes de las dos probetas analizadas después de una semana de inmersión.

Tanto el comportamiento a degradación de las probetas M-10MgP y M-10Mgext como su  $H_2$  acumulado son muy similares en la primera semana de inmersión. Sin embargo, a partir de la primera semana la evolución es diferente. El hidrógeno acumulado de la probeta mezclada mediante extrusión es de  $5,5 \text{ ml/cm}^2$ , considerablemente superior al de la procesada mediante suspensiones ( $3,6 \text{ ml/cm}^2$ ), evidenciando que el dispersante PEI anclado en la superficie de las partículas de Mg protege de forma efectiva a las partículas y ralentiza la degradación. La velocidad de degradación del compuesto M-

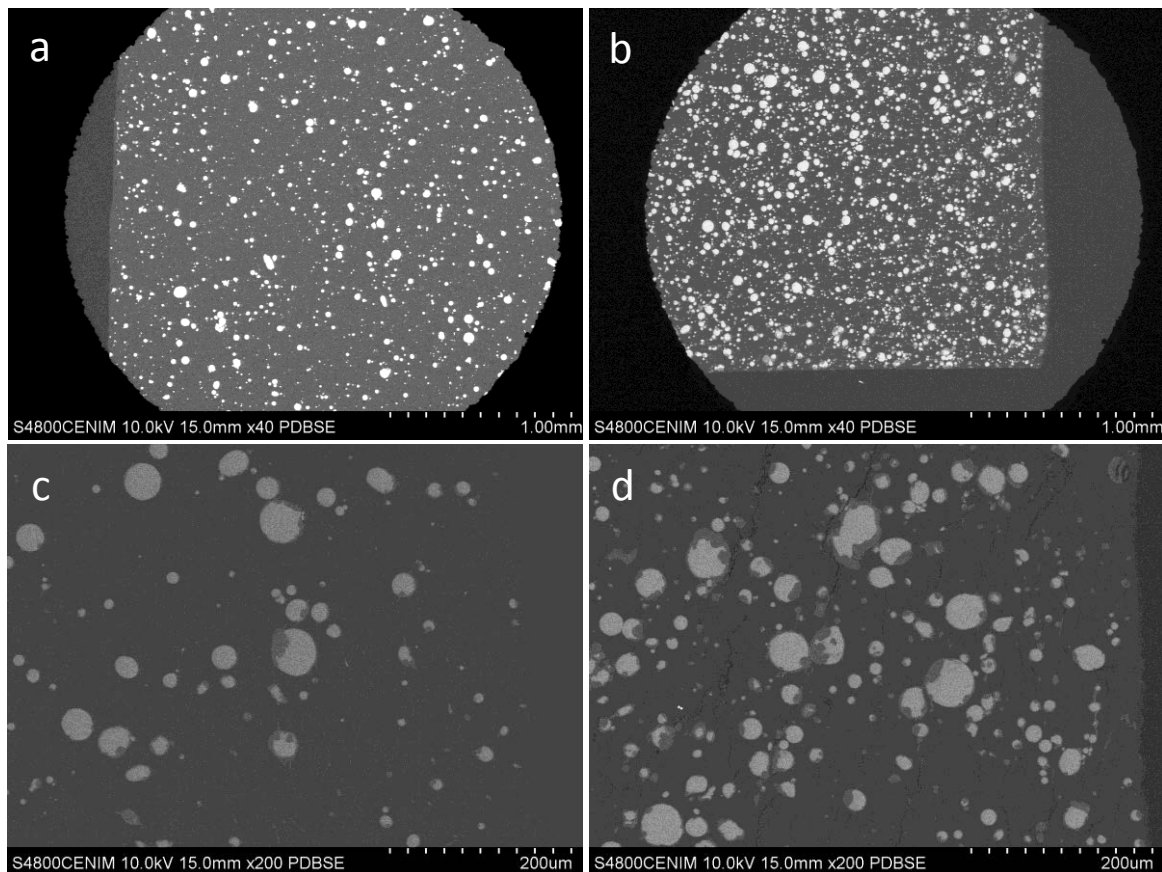
10Mgext también es diferente del observado para la probeta coloidal, donde la tendencia es lineal en el periodo de inmersión estudiado. Como se observa en la Figura 4.4.30, la liberación de hidrógeno en M-10Mgext no es lineal (trazados naranjas). Mientras que la velocidad de degradación en la primera semana de inmersión es relativamente lenta, la segunda semana muestra una pendiente en la liberación más pronunciada y las dos últimas semanas muestran una degradación menor y más constante. Cifuentes *et al.*[27] observan, para materiales PLA/Mg mezclados mediante extrusión, diferentes fases durante la degradación de los compuestos y la estabilización en la liberación de hidrógeno a los 20 días de inmersión, después de haber liberado 4,93 ml/cm<sup>2</sup>, al igual que en nuestro caso la muestra C-10Mgext.

Por lo tanto, el procesado coloidal, además de disminuir los tiempos de degradación, produce materiales que se degradan de forma homogénea, es decir con una velocidad de corrosión constante.

Continuando con la caracterización de la degradación de los termoprensados, se realizó el estudio de microscopía electrónica de barrido (MEB) del corte transversal de las probetas a dos tiempos de degradación, una semana y un mes. En la Figura 4.4.31 y Figura 4.4.32 se muestran las imágenes SEM del corte transversal de las probetas M-10MgP y M-30MgP después de una semana y un mes de inmersión, respectivamente.

En la Figura 4.4.31 se muestran los compuestos M-10MgP y M-30MgP a varios aumentos, donde se observa el efecto que produce en la degradación de las partículas de Mg la inmersión en PBS durante una semana. En la Figura 4.4.31a y b las partículas en la matriz, no presentan grandes cambios ni signos de degradación con respecto a los compuestos iniciales. En los siguientes aumentos se empiezan a observar los primeros signos de degradación del material, se distingue la fase Mg(OH)<sub>2</sub> en las partículas de Mg evidenciando su reacción con el medio, cabe destacar que esta degradación no ocurre siempre de manera radial, sino que en la mayoría de los casos la reacción se da únicamente en un lateral de la partícula y avanza hacia el lado opuesto. A una semana, en los ensayos de liberación de hidrógeno se observó que la degradación en el compuesto M-30MgP era mayor que en el caso de M-10MgP (proporcionalmente), aunque en las micrografías no se detecta una diferencia notable en el estado de corrosión de las partículas de Mg.

A mayores aumentos, en la Figura 4.4.31e y f (flechas) se detecta la presencia de grietas bastante pronunciadas en la matriz polimérica de los dos compuestos. Como se apuntaba anteriormente, el  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  es un hidróxido frágil con baja solubilidad en agua lo que produce que cuando se está disolviendo en el medio, precipite en las grietas produciendo algún fenómeno de erosión que aumente su tamaño. El aumento de Mg en los compuestos produce un mayor número de defectos en la matriz de PLA, que facilitan el paso de medio PBS al interior del cilindro, lo que acelera a su vez la degradación del material, el denominado efecto autocatalítico mencionado en los ensayos de liberación de hidrógeno. Finalmente, en la Figura 4.4.31g, h (flechas) se observan fenómenos de disolución-precipitación del  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  en las grietas que se han formado en el PLA por la sobresaturación del mismo.



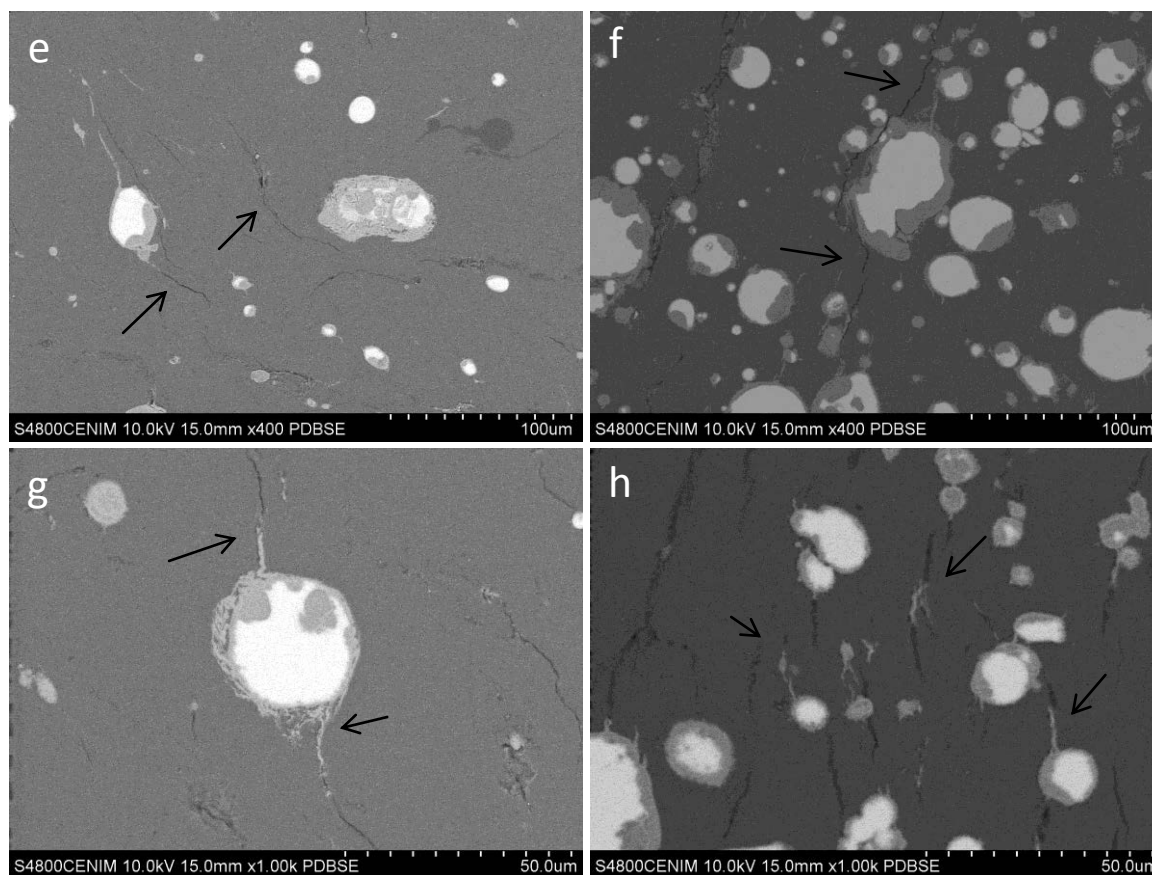


Figura 4.4.31. Micrografías SEM del corte transversal de las probetas M-10MgP (a,c,e y g) y M-30MgP (b,d,f y g) a distintos aumentos después de una semana de inmersión.

En la Figura 4.4.32 se muestran las micrografías de las probetas M-10MgP y M-30MgP después de un mes de inmersión en PBS. En este caso, a menor aumento (a y b) ya se aprecian signos de degradación, especialmente en la probeta con mayor cantidad de Mg, que muestra una grieta macroscópica en un lateral de la probeta, ocasionada por la acumulación de tensiones debido a la corrosión del Mg y la producción de hidróxido. A mayores aumentos se ve claramente que la degradación es más notable en las probetas M-30MgP que en las M-10MgP.

En ambas muestras aún sigue habiendo partículas que no han reaccionado por completo, así como otras que sí lo han hecho, principalmente las de menor tamaño, y que están disolviéndose. También se evidencia un aumento de la precipitación de hidróxido en las grietas (Figura 4.4.32c, d, e y f- flechas), siendo este fenómeno más notable conforme nos acercamos al borde de la probeta (Figura 4.4.32d). En la Figura 4.4.32g se muestra el frente de degradación de una partícula en la probeta M-10MgP, y en la Figura 4.4.32h, una partícula donde se ve el agrietamiento del hidróxido.



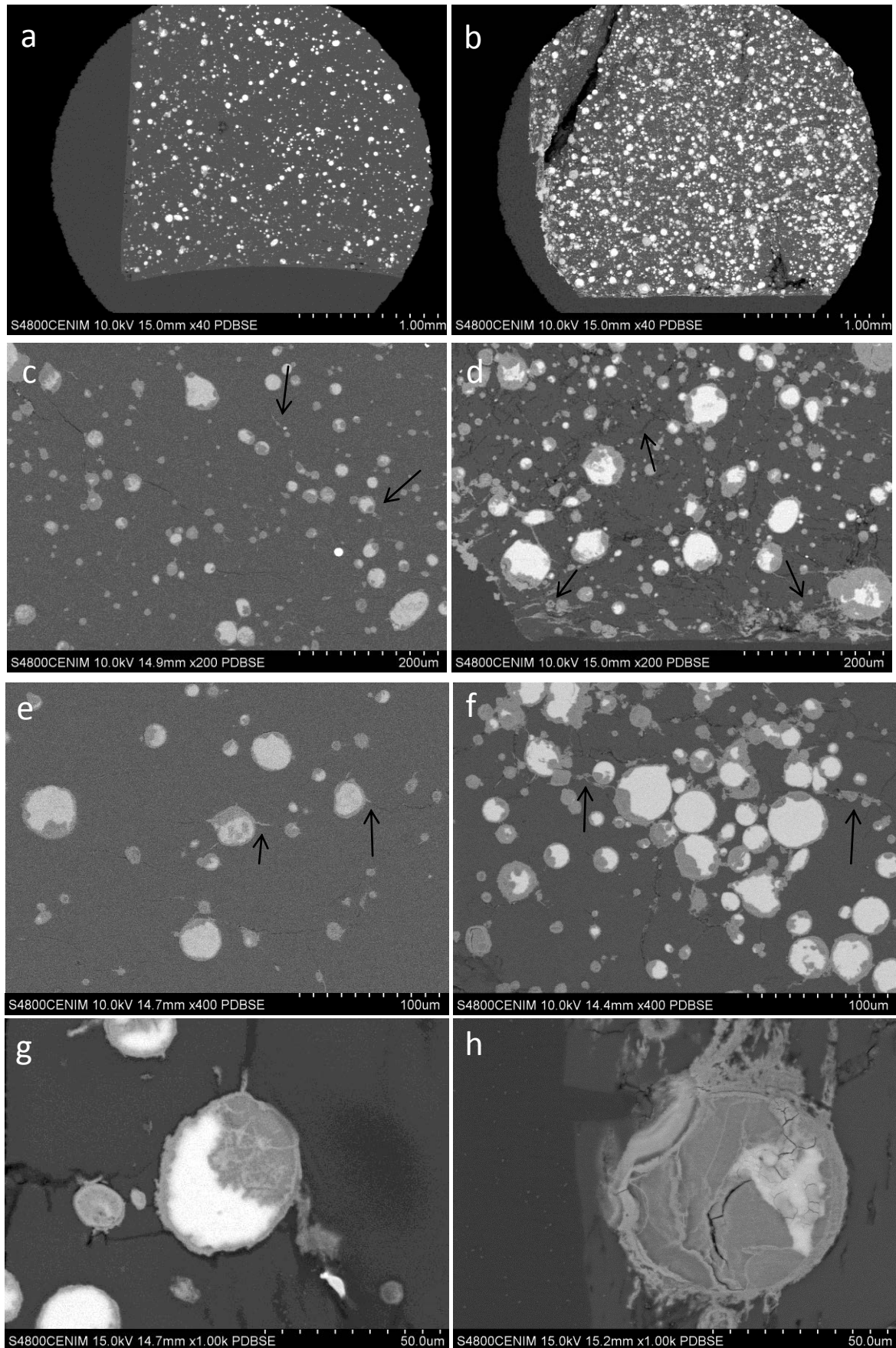


Figura 4.4.32. Micrografías SEM del corte transversal de las probetas M-10MgP (a,c,e y g) y M-30MgP (b,d,f y g) a distintos aumentos después de un mes de inmersión.

Además del estudio del comportamiento a corrosión mediante los ensayos de liberación de hidrógeno de los materiales termoprensados y del grado de degradación a una semana y un mes mediante microscopía electrónica de barrido, se llevaron a cabo medidas de retención de agua y pérdida de masa.

Las medidas de absorción de agua se realizan para evaluar la cantidad de disolución que los cilindros han absorbido después de su inmersión durante 7 y 28 días y está directamente relacionada con la hidrofiliidad de la muestra, que es uno de los parámetros más estudiados para evaluar biomateriales, y se correlaciona con buenos comportamientos a degradación [50]. Esta retención de agua se asocia a la fase amorfa de los polímeros [51] y a poros y grietas que, como ya se ha observado, se forman como consecuencia de la degradación de las partículas y del propio polímero [52].

La Figura 4.4.33a muestra los resultados de los dos compuestos M-10MgP y M-30MgP y la referencia M-PLA. La cristalinidad de todos los materiales analizados es lo suficientemente baja y similar entre ellos como para que no sea un factor que origine diferencias en los valores de absorción de agua. Al ser materiales prácticamente amorfos, la difusión de agua por las cadenas poliméricas no tendrá restricciones debido a los dominios cristalinos [53]. El PLA muestra una retención de agua mínima tanto en la primera semana como en la cuarta, de 0,6 y 0,8%, ya que aunque sea un polímero hidrolizable, tiene tiempos de degradación, y de reacción, largos. Sin embargo, tanto para una semana de inmersión como a un mes, la adición de Mg produce un aumento del agua absorbida por los cilindros, mucho más notable conforme mayor es la relación Mg/PLA. Este aumento se asocia a dos factores, al aumento de la hidrofiliidad y, principalmente, al aumento del grado de degradación de los materiales. La adición de Mg a la matriz polimérica produce un aumento de la hidrofiliidad de esta, como ya se ha observado en la caracterización de las cintas C-XMg, en las medidas de ángulo de contacto, y en la bibliografía [54]. La mayor hidrofiliidad de estos compuestos acelera la difusión de agua en el material y, como puede observarse en la Figura 4.4.33a, también la absorción y retención del medio, lo que producirá a su vez un aumento de la velocidad de degradación del polímero [55]. Pero el factor más determinante es la degradación que produce el Mg a la matriz de PLA en términos de grietas y poros, donde es más posible que se acumule el medio de inmersión. Esta acumulación de medio, a su vez, produce una mayor degradación de las partículas de Mg, que produce un mayor número de grietas y defectos en la matriz polimérica.

Una vez se evaluó la cantidad de agua que las probetas retienen, se llevó a cabo el análisis de variación de masa que experimentan después de secadas. Este ensayo da información suplementaria sobre el comportamiento a degradación de los materiales, principalmente sobre la disolución de las partículas de Mg que, como ya se comentó anteriormente, reacciona con el medio para dar su correspondiente hidróxido ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ), que a su vez se disuelve en el medio.

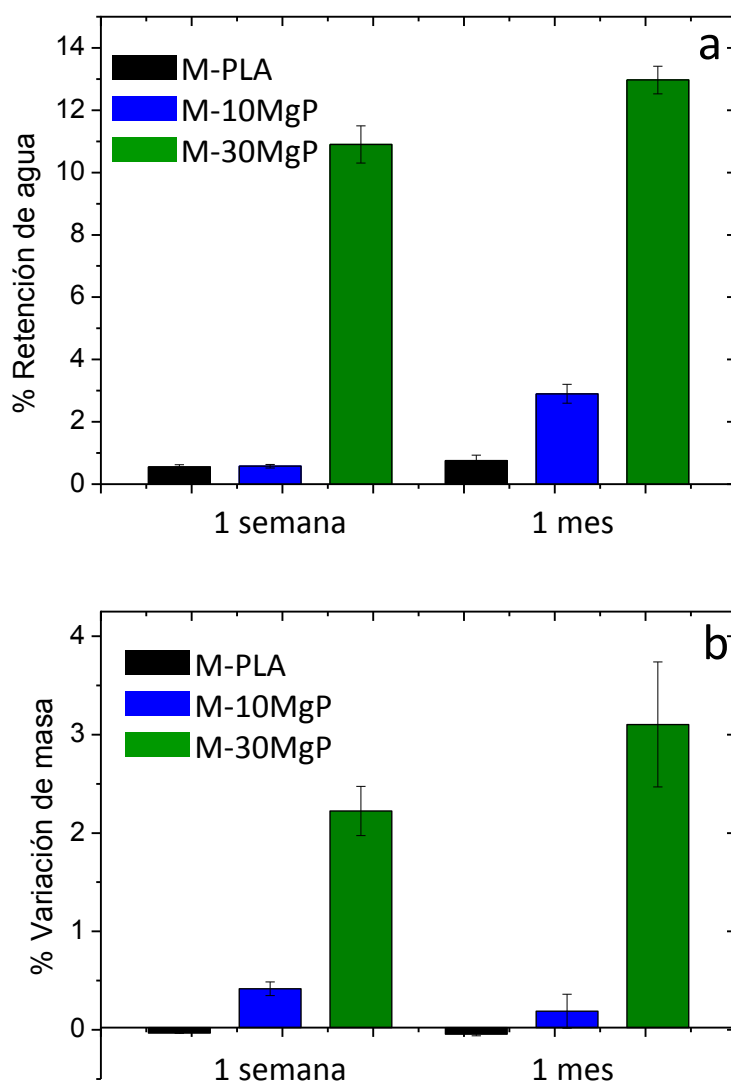


Figura 4.4.33. Retención de agua (a) y pérdida de masa (b) de las muestras M-PLA, M-10MgP y M-30MgP.

La Figura 4.4.33b muestra la variación en masa de los dos compuestos M-10MgP y M-30MgP y la referencia M-PLA después de 7 días y 28 días de inmersión en PBS. Los materiales compuestos exhiben una ganancia de masa tanto durante la primera semana como durante el mes de inmersión, mientras que la muestra M-PLA sin carga de Mg

pierde 0,03% y 0,05% de masa, respectivamente. La pérdida de masa es mínima y está justificada por los largos tiempos de degradación característicos del PLA [56].

La ganancia de masa de los compuestos estudiados indica que los productos de degradación de Mg han permanecido en las muestras y no se han disuelto en el medio PBS [27]. A una semana, la muestra M-10MgP presenta un aumento en masa del 0,42% y a un mes este aumento es menor, de 0,2%. Esto indica que en la primera semana de degradación está presente el hidróxido en la muestra, pero pasado un mes, aunque siga aumentando la cantidad de hidróxido, ya se está disolviendo en el medio, por lo que disminuye el peso de los compuestos.

Por otro parte, la muestra M-30MgP presenta un incremento en su masa de 2,2% a 7 días de inmersión y 3,1% a un mes. Por lo tanto en este caso, el aumento de la fase  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  es más significativo que la disolución de los materiales en el medio. De nuevo, las diferencias entre ambos compuestos son mayores que las esperadas debido a la proporción de carga de las mismas. Asumiendo que la disolución de los componentes es igual en ambos compuestos, la variación de masa relacionada con la cantidad de hidróxido de la muestra es 5 veces mayor en la muestra M-30MgP en el caso de una semana de inmersión y en el caso de un mes 15 veces mayor.

Estos resultados vienen a reforzar lo observado hasta ahora: el grado de degradación de la muestra M-30MgP es mayor que el de la muestra M-10MgP, tanto por la cantidad de agua que ha permeado el material como por las variaciones en masa que se han observado una vez seco. En general, la fase de degradación de los compuestos a un mes aún no es muy avanzada, ya que está comenzando la disolución de los componentes solubles, como el  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , pero aún sigue quedando fase de Mg pura sin reaccionar.

#### **4.4.2.3 Ensayos biológicos**

El estudio de biocompatibilidad *in vitro* de los termoprensados compuesto de PLA/Mg se realizó con células estromales ST-2 (Stromal cell line), células primarias perteneciente a los tejidos conjuntivos y que tienen la capacidad de diferenciarse en varios tipos de células y regenerar tejido óseo [57]. En la bibliografía se ha reportado que el estudio de biocompatibilidad *in vitro* utilizando este tipo de células, es un modelo válido para evaluar biomateriales como materiales para implantes óseos [58].

Durante este estudio únicamente se evaluó la proliferación y viabilidad de este tipo de células en los productos de degradación de los materiales después de 24 h y una semana de inmersión en DMEM. Este ensayo indirecto, como se ha comentado con anterioridad, proporciona información sobre la biocompatibilidad de los materiales y de sus productos de degradación, o de su posible toxicidad, sin tener en cuenta factores como la rugosidad. Al igual que en los ensayos de los compuestos en forma de cintas, la viabilidad y proliferación celular se analizó mediante ensayos WST-8, así como la morfología de las células ST-2 se observó mediante la tinción de las membranas y sus núcleos con rodamina y DAPI.

La Figura 4.4.34 muestra la viabilidad celular determinada en los ensayos indirectos para los extractos de las muestras M-PLA, M-10MgP y M-30MgP obtenidos en 24h y 7 días de inmersión. Los valores de viabilidad se expresan con respecto a la referencia del medio DMEM puro. La viabilidad en los medios de degradación a 24h de incubación de los materiales compuestos M-10MgP y M-30MgP es significativamente mayor que la viabilidad en el medio de los termoprensados de PLA (M-PLA). Sin embargo después de una semana de incubación, una vez la degradación es más notable (Figura 4.4.31) las viabilidades en general decrecen para todos los materiales. En el caso de la muestra M-PLA lo hace desde un 100 a un 90%, y se asocia a la hidrólisis del polímero dando lugar a grupos ácido que podrían modificar levemente el medio disminuyendo la viabilidad. Para la muestra M-10MgP, la disminución es de 140 a 110%, que aun siendo ambos valores muy favorables, se asocia la disminución al mismo factor que en el caso del blanco. Una semana de degradación es suficiente para producir una cantidad de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  notable como se muestra en las micrografías (Figura 4.4.31), por lo que aunque el pH del PBS nunca sufrió un cambio significativo debido a su capacidad tampón, es posible que sí se produzcan cambios locales de pH en las proximidades de la probeta favorecidos porque el ensayo se llevó a cabo en un volumen muy reducido en comparación con los de liberación de hidrógeno y sin agitación.

El caso de la muestra M-30MgP es diferente, los extractos de esta muestra a una semana de degradación presentan citotoxicidad, y disminuyen la viabilidad de 140% a 24 h a en una semana. En este caso, el factor predominante no es tanto la variación de pH, mucho más significativa debido a la alta proporción de superficie expuesta frente al volumen del medio, sino a la precipitación de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  en el medio DMEM. Como ya observamos en el capítulo 4.1, cuando la bicapa  $\text{MgO}/\text{Mg}(\text{OH})_2$  presente en todas las

partículas no se encuentra pasivada, esta aumenta produciendo grandes cantidades de hidróxido que mediante procesos de disolución-precipitación se acumulan en la superficie o rompen y quedan en el medio. El hidróxido, pasado una semana sin cambiar el medio DMEM, se acumula y precipita de nuevo en las paredes del recipiente en forma de agujas. Esta morfología produce la muerte de las células y por tanto es la responsable de la citotoxicidad de estos extractos.

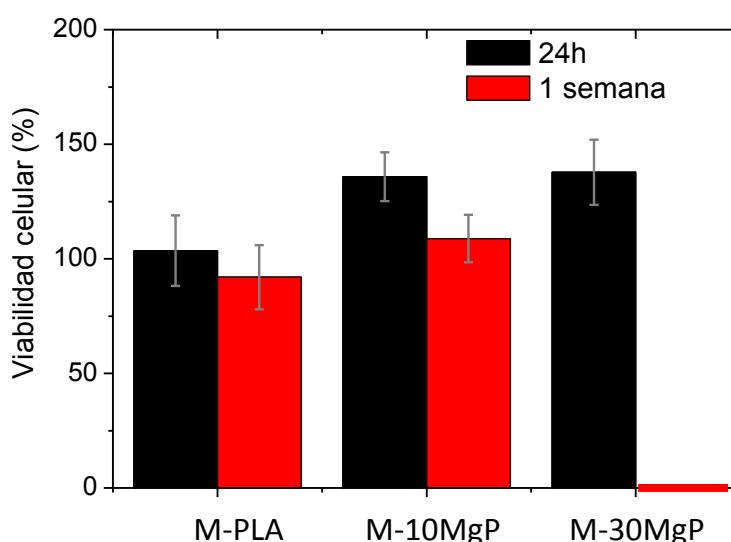


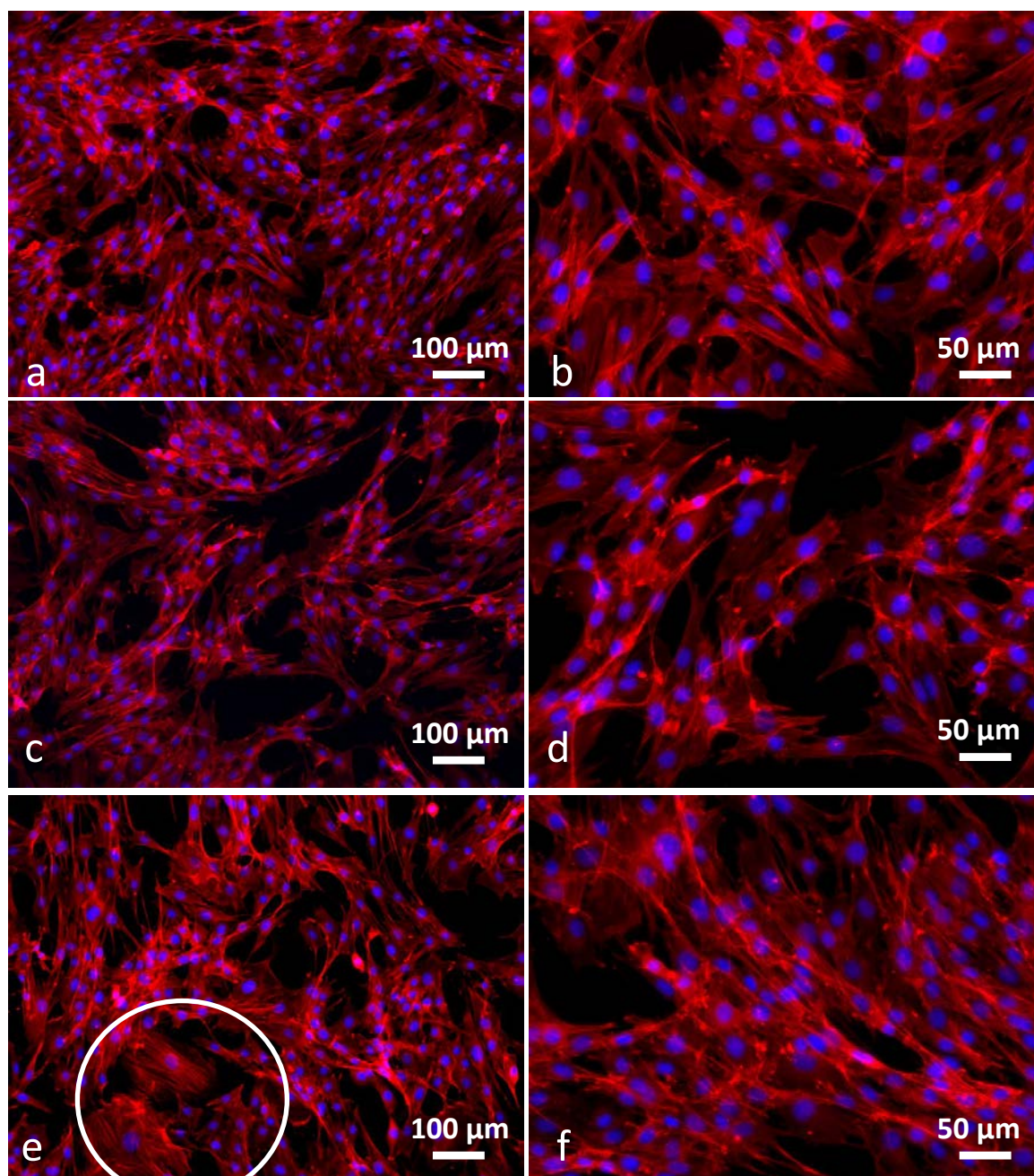
Figura 4.4.34. Viabilidad celular de los extractos de degradación de las muestras M-PLA, M-10MgP y M-30MgP sumergidas en DMEM durante 24 horas y 1 semana.

Para estudiar la morfología de las células ST-2 al igual que se hizo con los fibroblastos MEF, estas se han teñido con dos marcadores diferentes, Rodamina y DAPI. El DAPI ya ha sido definido como un marcador de ADN y de núcleos celulares, pero la Rodamina es ligeramente diferente al Vybrant. La Rodamina tiñe la actina-F presente en los microfilamentos, uno de los tres componentes fundamentales del citoesqueleto de las células. Su estructura filamentosa puede observarse en la Figura 4.4.35 y Figura 4.4.36 de color rojo, acompañada de la tinción en azul de los núcleos.

La Figura 4.4.35 muestra la morfología de las células ST-2 después de ser incubadas durante 24h en DMEM (control) y en los extractos de las muestras M-PLA (c, d), M-10MgP (e, f) y M-30MgP (g, h). La morfología de las células es similar para todos los extractos y para el control y es la esperada para esta línea celular [59], a su vez han proliferado considerablemente en una monocapa y se han adherido a la superficie de la placa. La densidad de células es muy similar para las 3 primeras muestras, el control, M-PLA y M-10MgP aunque parece ser mayor en el caso de la muestra M-30MgP. En las primeras 24h, la diferencia observada en la muestra con mayor cantidad de Mg con



respecto a la M-10MgP puede deberse a un aumento de la liberación de iones  $Mg^{2+}$ , que como ya se ha reportado en la bibliografía aumenta la proliferación de células estromales [60]. Esta proliferación se evidencia en la Figura 4.4.35e y g donde aparecen (rodeadas con un círculo) algunas células con un tamaño diferente al de las demás debido a que están llevando a cabo la división celular.



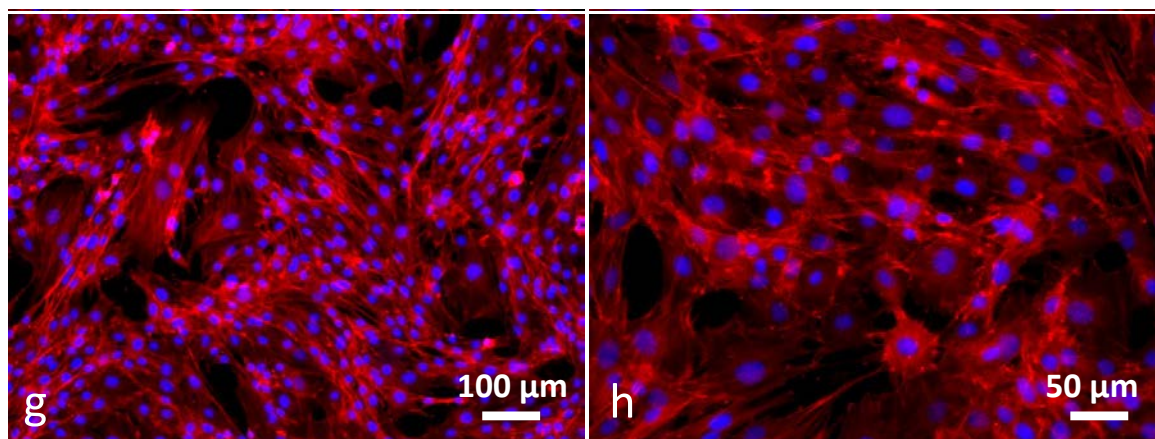


Figura 4.4.35. Imágenes de microscopia que revelan la morfología de las células ST-2 cultivadas como control (a, b) y en los extractos de degradación de muestras de M-PLA (c, d) y en las muestras M-10MgP (e,f) y M-30MgP (g, h) durante 24h

Por último, en la Figura 4.4.36 se muestran las células ST-2 cultivadas durante 24h en los extractos de degradación de una semana de las muestras M-PLA, M-10MgP y M-30MgP. Las células cultivadas en los extractos de las muestras M-PLA y M-10MgP no parecen mostrar diferencias ni morfológicas ni en términos de densidad con respecto a las cultivadas en los extractos de 24h. En la Figura 4.4.36b se observa de nuevo la división de una célula, por lo que se evidencia que la proliferación continúa después del tiempo de incubación. Sin embargo en el caso de la muestra M-30MgP, la presencia de células es prácticamente nula, únicamente aparecen algunas con una morfología diferente a la esperada por lo que se corrobora de nuevo la citotoxicidad de estos extractos de degradación.

En resumen, se ha evaluado la biocompatibilidad de los extractos liberados por los materiales termoprensados a 24h y una semana, y se observa un gran aumento en la viabilidad celular con el aumento del contenido de Mg , exceptuando la muestra M-30MgP a una semana que produce citotoxicidad a nivel celular por su alto contenido de carga inorgánica.



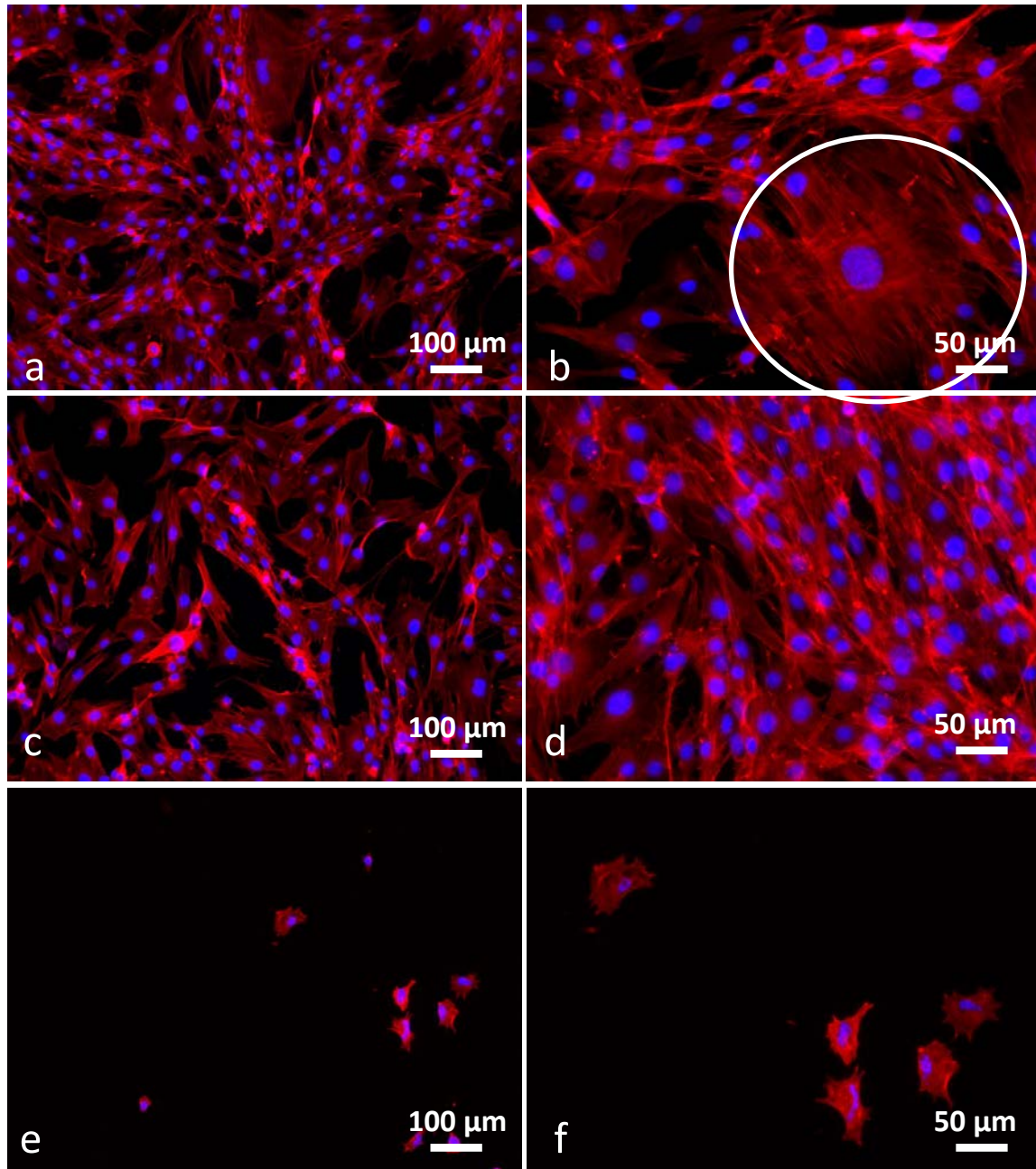


Figura 4.4.36. Imágenes de microscopia que revelan la morfología de las células ST-2 cultivadas en los extractos de degradación de muestras de M-PLA (a, b) y en las muestras M-10MgP (c,d) y M-30MgP (e, f) durante 1 semana.

## Bibliografía

- [1] S. C. Cifuentes, M. Lieblich, F. A. López, R. Benavente, and J. L. González-Carrasco, “Effect of Mg content on the thermal stability and mechanical behaviour of PLLA/Mg composites processed by hot extrusion,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 72, pp. 18–25, 2017.
- [2] J.-K. Kim, M.-L. Sham, and J. Wu, “Nanoscale characterisation of interphase in silane treated glass fibre composites,” *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 32, no. 5, pp. 607–618, 2001.
- [3] A. M. Díez-Pascual, M. A. Gómez-Fatou, F. Ania, and A. Flores, “Nanoindentation Assessment of the Interphase in Carbon Nanotube-Based Hierarchical Composites,” *J. Phys. Chem. C*, vol. 116, no. 45, pp. 24193–24200, Nov. 2012.
- [4] A. Hodzic, S. Kalyanasundaram, J. K. Kim, A. E. Lowe, and Z. H. Stachurski, “Application of nano-indentation, nano-scratch and single fibre tests in investigation of interphases in composite materials,” *Micron*, vol. 32, no. 8, pp. 765–775, 2001.
- [5] A. Hodzic, J. K. Kim, A. E. Lowe, and Z. H. Stachurski, “The effects of water aging on the interphase region and interlaminar fracture toughness in polymer–glass composites,” *Compos. Sci. Technol.*, vol. 64, no. 13, pp. 2185–2195, 2004.
- [6] D. Wright- Charlesworth Debra, D. Miller, I. Miskioglu, and J. King, “Nanoindentation of injection molded PLA and self- reinforced composite PLA after in vitro conditioning for three months,” *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 74A, no. 3, pp. 388–396, Jul. 2005.
- [7] T. Murayama, “DYNAMIC MECHANICAL ANALYSIS OF POLYMERS AND PLASTIC,” in *Annual Technical Conference - Society of Plastics Engineers*, 1983, pp. 515–517.
- [8] S. Li, J. Xia, Y. Xu, X. Yang, W. Mao, and K. Huang, “Preparation and characterization of acorn starch/poly(lactic acid) composites modified with functionalized vegetable oil derivatives,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 142, pp. 250–258, 2016.
- [9] J. O. Akindoyo, M. D. H. Beg, S. Ghazali, H. P. Heim, and M. Feldmann, “Effects of surface modification on dispersion, mechanical, thermal and dynamic mechanical properties of injection molded PLA-hydroxyapatite composites,” *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 103, pp. 96–105, Dec. 2017.
- [10] X. Liu, T. Wang, L. C. Chow, M. Yang, and J. W. Mitchell, “Effects of inorganic fillers on the thermal and mechanical properties of poly(lactic acid),” *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2014, 2014.
- [11] T. Motoyama, T. Tsukegi, Y. Shirai, H. Nishida, and T. Endo, “Effects of MgO catalyst on depolymerization of poly-L-lactic acid to L,L-lactide,” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 92, no. 7, pp. 1350–1358, 2007.
- [12] M. S. Huda, L. T. Drzal, A. K. Mohanty, and M. Misra, “Chopped glass and

- recycled newspaper as reinforcement fibers in injection molded poly(lactic acid) (PLA) composites: A comparative study,” *Compos. Sci. Technol.*, vol. 66, no. 11–12, pp. 1813–1824, 2006.
- [13] G. Mittal, K. Y. Rhee, V. Mišković-Stanković, and D. Hui, “Reinforcements in multi-scale polymer composites: Processing, properties, and applications,” *Compos. Part B Eng.*, vol. 138, pp. 122–139, 2018.
- [14] C. Swaroop and M. Shukla, “Nano-magnesium oxide reinforced polylactic acid biofilms for food packaging applications,” *Int. J. Biol. Macromol.*, 2018.
- [15] G. Song and A. Atrens, “Understanding Magnesium Corrosion—A Framework for Improved Alloy Performance,” *Adv. Eng. Mater.*, vol. 5, no. 12, pp. 837–858, 2003.
- [16] G. Song, A. Atrens, and D. Suohn, “An Hydrogen Evolution Method for the Estimation of the Corrosion Rate of Magnesium Alloys,” in *Essential Readings in Magnesium Technology*, 2014, pp. 565–572.
- [17] T. R. Farhat and J. B. Schlenoff, “Corrosion control using polyelectrolyte multilayers,” *Electrochem. Solid-State Lett.*, vol. 5, no. 4, pp. B13–B15, 2002.
- [18] L.-Y. Cui, R.-C. Zeng, X.-X. Zhu, T.-T. Pang, S.-Q. Li, and F. Zhang, “Corrosion resistance of biodegradable polymeric layer-by-layer coatings on magnesium alloy AZ31,” *Front. Mater. Sci.*, vol. 10, no. 2, pp. 134–146, 2016.
- [19] D. Liu, Y. Yan, K. Lee, and J. Yu, “Effect of surfactant on the alumina dispersion and corrosion behavior of electroless Ni-P-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> composite coatings,” *Mater. Corros.*, vol. 60, no. 9, pp. 690–694, 2009.
- [20] H. Nady, M. M. El-Rabiei, M. Fathy, and M. A. Migahed, “Corrosion Control of Cu-10Al-10Ni and Cu-10Al-10Zn Alloys in Seawater Environment by Some Ethoxylated Tolyltriazole Derivatives,” *Zeitschrift fur Phys. Chemie*, vol. 231, no. 6, pp. 1179–1209, 2017.
- [21] Y. Wang, C. S. Lim, C. V Lim, M. S. Yong, E. K. Teo, and L. N. Moh, “In vitro degradation behavior of M1A magnesium alloy in protein-containing simulated body fluid,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 31, no. 3, pp. 579–587, 2011.
- [22] Y. Ren, J. Huang, B. Zhang, and K. Yang, “Preliminary study of biodegradation of AZ31B magnesium alloy,” *Front. Mater. Sci. China*, vol. 1, no. 4, pp. 401–404, 2007.
- [23] M. S. Butt, J. Bai, X. Wan, C. Chu, F. Xue, H. Ding, and G. Zhou, “Mechanical and degradation properties of biodegradable Mg strengthened poly-lactic acid composite through plastic injection molding,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 70, 2017.
- [24] A.-I. Bitá, A. Semenescu, A. Antoniac, and I. Antoniac, “Hydrogen evolution analyzed on various magnesium alloys,” *Key Engineering Materials*, vol. 695, pp. 152–156, 2016.
- [25] X. N. Gu, N. Li, W. R. Zhou, Y. F. Zheng, X. Zhao, Q. Z. Cai, and L. Ruan, “Corrosion resistance and surface biocompatibility of a microarc oxidation coating on a Mg-Ca alloy,” *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 4, pp. 1880–1889, 2011.

- [26] Z. Wei, P. Tian, X. Liu, and B. Zhou, "In vitro degradation, hemolysis, and cytocompatibility of PEO/PLLA composite coating on biodegradable AZ31 alloy," *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 103, no. 2, pp. 342–354, 2015.
- [27] S. C. C. Cifuentes, R. Gavilán, M. Lieblisch, R. Benavente, and J. L. L. González-Carrasco, "In vitro degradation of biodegradable polylactic acid/magnesium composites: Relevance of Mg particle shape," *Acta Biomater.*, vol. 32, pp. 348–357, 2016.
- [28] Z. G. Huan, M. A. Leeftang, J. Zhou, L. E. Fratila-Apachitei, and J. Duszczek, "In vitro degradation behavior and cytocompatibility of Mg–Zn–Zr alloys," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 21, no. 9, pp. 2623–2635, 2010.
- [29] M. Deroine, A. Le Duigou, Y.-M. Corre, P.-Y. Le Gac, P. Davies, G. César, and S. Bruzaud, "Accelerated ageing of polylactide in aqueous environments: Comparative study between distilled water and seawater," *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 108, 2014.
- [30] Y. V. Tertyshnaya, S. G. Karpova, and A. A. Popov, "Effect of aqueous medium on the molecular mobility of polylactide," *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 11, no. 3, pp. 531–537, 2017.
- [31] V. Berthé, L. Ferry, J. C. Bénézet, and A. Bergeret, "Ageing of different biodegradable polyesters blends mechanical and hygrothermal behavior," *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 95, no. 3, pp. 262–269, 2010.
- [32] R. Pantani, F. De Santis, F. Auriemma, C. De Rosa, and R. Di Girolamo, "Effects of water sorption on poly(lactic acid)," *Polym. (United Kingdom)*, vol. 99, pp. 130–139, 2016.
- [33] S. Li and S. McCarthy, "Further investigations on the hydrolytic degradation of poly (DL-lactide)," *Biomaterials*, vol. 20, no. 1, pp. 35–44, 1999.
- [34] F. Strodtbeck, "Physiology of wound healing," *Newborn Infant Nurs. Rev.*, vol. 1, no. 1, pp. 43–52, 2001.
- [35] D.-J. Lin, F.-Y. Hung, M.-L. Yeh, and T.-S. Lui, "Microstructure-modified biodegradable magnesium alloy for promoting cytocompatibility and wound healing in vitro," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 26, no. 10, 2015.
- [36] H. Zreiqat, C. R. Howlett, A. Zannettino, P. Evans, G. Schulze-Tanzil, C. Knabe, and M. Shakibaei, "Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants," *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 62, no. 2, pp. 175–184, 2002.
- [37] D.-J. Lin, F.-Y. Hung, H.-J. Liu, and M.-L. Yeh, "Dynamic Corrosion and Material Characteristics of Mg–Zn–Zr Mini-Tubes: The Influence of Microstructures and Extrusion Parameters," *Adv. Eng. Mater.*, vol. 19, no. 11, 2017.
- [38] X. Gu, Y. Zheng, Y. Cheng, S. Zhong, and T. Xi, "In vitro corrosion and biocompatibility of binary magnesium alloys," *Biomaterials*, vol. 30, no. 4, pp. 484–498, 2009.

- [39] T. Y. Nguyen, C. G. Liew, and H. Liu, “An In Vitro Mechanism Study on the Proliferation and Pluripotency of Human Embryonic Stems Cells in Response to Magnesium Degradation,” *PLoS One*, vol. 8, no. 10, 2013.
- [40] A. Mochizuki, C. Yahata, and H. Takai, “Cytocompatibility of magnesium and AZ31 alloy with three types of cell lines using a direct in vitro method,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 27, no. 9, 2016.
- [41] R. Auras, L. T. Lim, S. E. M. Selke, and H. Tsuji, *Poly-lactic acid. Synthesis, Structures, Properties, and Applications*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [42] A. Paulo, P. Humberto, P. Patricia, F. Marcos, and C. Pablo, “Poly(lactic acid) composites based on graphene oxide particles with antibacterial behavior enhanced by electrical stimulus and biocompatibility,” *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 106, no. 4, pp. 1051–1060, Dec. 2017.
- [43] P. Vicario P., L. Zichun, G. Irina, W. Zheng, and S. Tom, “Cell adhesion and proliferation are reduced on stainless steel coated with polysaccharide- based polymeric formulations,” *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 89B, no. 1, pp. 114–121, Aug. 2008.
- [44] H.-P. Lee, D.-J. Lin, and M.-L. Yeh, “Phenolic modified ceramic coating on biodegradable Mg alloy: The improved corrosion resistance and osteoblast-like cell activity,” *Materials (Basel)*, vol. 10, no. 7, 2017.
- [45] R. M. Lozano, B. T. Pérez-Maceda, M. Carboneras, E. Onofre-Bustamante, M. C. García-Alonso, and M. L. Escudero, “Response of MC3T3-E1 osteoblasts, L929 fibroblasts, and J774 macrophages to fluoride surface-modified AZ31 magnesium alloy,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 101, no. 10, pp. 2753–2762, 2013.
- [46] S. Z. Khalajabadi, M. R. Abdul Kadir, S. Izman, and M. Marvibaigi, “The effect of MgO on the biodegradation, physical properties and biocompatibility of a Mg/HA/MgO nanocomposite manufactured by powder metallurgy method,” *J. Alloys Compd.*, vol. 655, pp. 266–280, 2016.
- [47] S. C. Cifuentes, F. Bensiamar, A. M. Gallardo-Moreno, T. A. Osswald, J. L. González-Carrasco, R. Benavente, M. L. González-Martín, E. García-Rey, N. Vilaboa, and L. Saldaña, “Incorporation of Mg particles into PDLLA regulates mesenchymal stem cell and macrophage responses,” *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 104, no. 4, pp. 866–878, Apr. 2016.
- [48] Y. Sasaki, G. A. Sathi, and O. Yamamoto, “Wound healing effect of bioactive ion released from Mg-smectite,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 77, pp. 52–57, 2017.
- [49] Y. Shikinami and M. Okuno, “Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly l-lactide (PLLA). Part II: practical properties of miniscrews and miniplates,” *Biomaterials*, vol. 22, no. 23, pp. 3197–3211, 2001.
- [50] E. J. Choi, B. Son, T. S. Hwang, and E.-H. Hwang, “Increase of degradation and water uptake rate using electrospun star-shaped poly(d,l-lactide) nanofiber,” *J.*

- Ind. Eng. Chem.*, vol. 17, no. 4, pp. 691–695, 2011.
- [51] H. Tsuji, “In vitro hydrolysis of blends from enantiomeric poly(lactide)s. Part 4: well-homo-crystallized blend and nonblended films,” *Biomaterials*, vol. 24, no. 4, pp. 537–547, 2003.
  - [52] T. J. Lehtonen, J. U. Tuominen, and E. Hiekkänen, “Resorbable composites with bioresorbable glass fibers for load-bearing applications. In vitro degradation and degradation mechanism,” *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 1, pp. 4868–4877, 2013.
  - [53] H. Tsuji and K. Ikarashi, “In Vitro Hydrolysis of Poly(l-lactide) Crystalline Residues as Extended-Chain Crystallites: II. Effects of Hydrolysis Temperature,” *Biomacromolecules*, vol. 5, no. 3, pp. 1021–1028, 2004.
  - [54] M. C. Fernández-Calderón, S. C. Cifuentes, M. A. Pacha-Olivenza, A. M. Gallardo-Moreno, L. Saldaña, J. L. González-Carrasco, M. T. Blanco, N. Vilaboa, M. L. González-Martín, and C. Pérez-Giraldo, “Antibacterial effect of novel biodegradable and bioresorbable PLDA/Mg composites,” *Biomed. Mater.*, vol. 12, no. 1, 2017.
  - [55] H. Cho and J. An, “The effect of  $\epsilon$ -caproyl/d,l-lactyl unit composition on the hydrolytic degradation of poly(d,l-lactide-ran- $\epsilon$ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(d,l-lactide-ran- $\epsilon$ -caprolactone),” *Biomaterials*, vol. 27, no. 4, pp. 544–552, 2006.
  - [56] A. C. R. Grayson, G. Voskerician, A. Lynn, J. M. Anderson, M. J. Cima, and R. Langer, “Differential degradation rates in vivo and in vitro of biocompatible poly(lactic acid) and poly(glycolic acid) homo- and co-polymers for polymeric drug-delivery microchip,” *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 15, no. 10, pp. 1281–1304, 2004.
  - [57] M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, and D. R. Marshak, “Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells,” *Science (80-. )*, vol. 284, no. 5411, p. 143 LP-147, Apr. 1999.
  - [58] H. Sun, C. Wu, K. Dai, J. Chang, and T. Tang, “Proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells on akermanite-bioactive ceramics,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 33, pp. 5651–5657, 2006.
  - [59] C. Y. and G. Y. and J. Z. and Z. T. and X. Z. and K. Dai, “Effects of magnesium alloys extracts on adult human bone marrow-derived stromal cell viability and osteogenic differentiation,” *Biomed. Mater.*, vol. 5, no. 4, p. 45005, 2010.
  - [60] S. Yoshizawa, A. Brown, A. Barchowsky, and C. Sfeir, “Magnesium ion stimulation of bone marrow stromal cells enhances osteogenic activity, simulating the effect of magnesium alloy degradation,” *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 6, pp. 2834–2842, 2014.

## 5 Conclusions

**I.** During this doctoral thesis, an alternative and novel method of wet mixing of Mg particles and PLA was developed. This new method is based on the study and optimization of the colloidal stability of Mg microparticles. In this way the amount of load in composites has been increased by processing materials with mass contents of up to 50% Mg, homogeneously distributed in the polymeric matrix and without provoking the thermal degradation of polymer. To this purpose, the Mg particles have been dispersed and stabilized in an aqueous medium, to subsequently prepare suspensions in an organic solution of PLA.

**a.** First of all, the Mg particles corrosion mechanism has been determined by evaluating the corrosion of these particles in water. The mechanism is based on the formation of an MgO layer on the particle surface by solution/precipitation phenomena, forming in addition an external layer of Mg(OH)<sub>2</sub>. This layer has been already described in the literature for Mg plates, and in this work it has been proven to prevail also in the case of particles in aqueous suspensions. The hydroxide layer grows corroding the particle in greater proportion in suspensions at pH < 11, than at pH > 11, where it forms a smaller layer.

**b.** The surface modification of the Mg particles has been studied in aqueous medium by the addition of two stabilizer types, a polyelectrolyte (PEI) and a surfactant (CTAB). It was determined that the optimum amount of both stabilizers to cover the surface of the particles is 0,2 wt.%. It was also determined that the polyelectrolyte acts inhibiting the degradation of Mg and expanding the passivation zone better than the surfactant. However, suspensions stabilized with CTAB present a better, pseudoplastic, rheological behavior, which avoids a possible segregation of phases or particle sedimentation in suspension.

**c.** By the methodology proposed in this thesis, suspensions have been prepared in the organic medium, which allows to process different composite material shapes starting from two very different routes: tape casting and granulation. In the second case, the granules can be further used as feedstock to manufacture 3D materials. Whereas by casting tapes are obtained by the evaporation of the solvent under room pressure and temperature, the granulation

was carried out by means of an anti-solvent (water) without exceeding the 9:1 ratio of THF:H<sub>2</sub>O to avoid producing the massive flocculation of PLA.

**II.** The physico-chemical characterization of the processed tapes has allowed to determine the changes produced in the PLA matrix by the addition of the inorganic load without the use of high temperature during processing.

**a.** By FTIR-ATR measurements, some modifications in PLA matrix have been observed due to the presence of the inorganic filler and PEI and CTAB stabilizers. These modifications are directly associated with the interactions between the chemical groups of PLA and stabilizers, either by the formation of hydrogen bonds or by ionic and electrostatic interactions.

**b.** The thermal characterization of the materials shows that the tape casting processing enhances PLA crystallization. In addition, Mg has a nucleating effect when it is modified with PEI, due to its higher interaction with the matrix, but not with CTAB. The crystals produced at low Mg concentrations are more perfect and slightly increase the melting temperature of the compounds from 148 to 150 °C. Once the thermal history is eliminated, both materials show very similar thermal behavior. When Mg load increases the degradation temperature of the composites decreases from 279 to 234 °C, compared to 298 °C of the PLA, due to the depolymerizing effect of MgO on PLA.

**c.** The Mg particles are embedded in the polymer matrix and protected by a PLA layer, as drawn from the microstructural characterization. Tapes processed with PEI have better particle dispersion than those processed with CTAB, contrary to what is expected. This result allows to conclude that the dispersion of Mg in the matrix results better when the interaction of PEI with PLA takes place in the suspension, rather than because of the affinity of a stabilizer such as CTAB with the organic medium. On the other hand, the surface roughness and the height of the irregularities increase with Mg content, to a greater extent for the samples processed with CTAB. This factor is again associated with the fact that the affinity of CTAB with the organic solvent THF is less determinant than the affinity of PEI and PLA.

**d.** The incorporation of Mg particles produces an improvement in PLA hydrophilicity also associated with the roughness increase. Additionally, the Mg



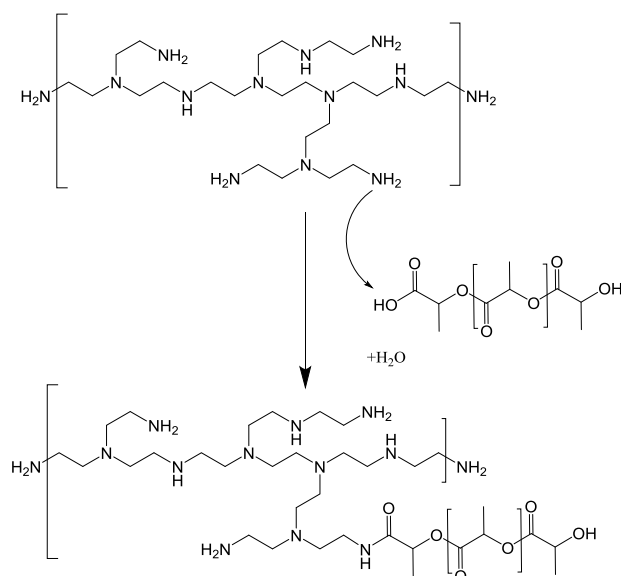
load produces a decrease of gas permeability, a property associated with the composite crystallinity.

**III.** By the precipitation with an antisolvent agent PLA/Mg granules were obtained that can be used as feedstocks to process 3D bulk materials both as dense and as porous pieces.

**a.** The PLA/Mg granules present ionic interactions between chain and end chain functional group of PEI and PLA, and a certain degree of reaction.

**b.** The granules also show that Mg particles modified with PEI have a nucleation effect on PLA crystals, as well as on the composite melt temperature, that increases up to 153-155 °C. Once the thermal history is eliminated, composite granules show similar thermal behaviour, the only difference being that in some cases there appear two melting peaks,  $T_m$ , associated to melt-recrystallization processes. Finally, the degradation temperature diminishes 100 °C with respect to the as-received polymer (298-198 °C). This decrease does not compromise the processing of the PLA/Mg composites.

**IV.** The optimum conditions to obtain dense cylinders by thermopressing where 160 °C for 15 min and under 260 bar. The PLA is amorphous in the composite material due to the fact that this polymer is not able to crystallize from the melt. The melt temperatures depend on the amount of Mg, and two peaks may appear associated to melt/recrystallization processes of the polymeric chains. The study of these composite structures show that the PEI stabilizer and the PLA matrix react to give a covalent bond. This is because the processing temperature (>100 °C) promotes the reaction of the PEI amine groups with carbonyl groups, promoting the rupture of the polymeric chain, and with the acid groups at the end of the PLA chain. The proposed reaction, according to the FTIR results, is:



**V.** The study of the mechanical properties of the composite tapes and thermopressed materials allows to reach the following conclusions:

- a.** Mg reinforces the matrix, both in hardness and modulus. This reinforcement increases as the polymer approaches the particle, according to the nanoindentation results. This effect, in the case of PLA/Mg processed with PEI, covers 5  $\mu\text{m}$  around each Mg particle.
- b.** The mechanodynamic study and the tensile tests of the tapes reveal an increase in mechanical properties when Mg content is slightly increased, but they diminish afterwards. This improvement, is mainly observed in the elastic modulus and tensile stress in the tapes processed with PEI. On the other hand, there is a fragilization of the tapes as the amount of Mg increases, with a decrease of 5% in total elongation as well as a decrease of the damping factor ( $\tan \delta$ ).
- c.** The mechanical properties (compression) of the thermopressed materials improve more evidently due to the presence of Mg particles, so that up to 10% in elastic modulus can be achieved. This improvement is associated to a strong bonding between the polymer and the particles, given that this effect is not observed in composites mixed by extrusion without any surface modification of the Mg particles.

**VI.** With respect to the *in vitro* degradation, the following conclusions are obtained:

- a.** The composite tapes processed with PEI released the smallest amount of hydrogen. There was no composition that exceeded the tolerable amount set for

the human body ( $2.25 \text{ ml/cm}^2/\text{day}$ ). The hydrogen release was not proportional to the Mg content, which is an indication of an autocatalytic degradation process. The microscopic study confirms that degradation increases with immersion time. Magnesium hydroxide is observed to precipitate in cracks as well as on the particles. The low solubility of the hydroxide produces the precipitation of this compound in the cracks, which may increase their size giving rise to the autocatalytic degradation effect. The thermal study of the degraded tapes shows an increase in the rigidity of the material and a slight loss of its molecular weight as immersion time increases.

**b.** The tolerable amount of hydrogen release was not surpassed by the thermopressed cylinders (M-10MgP and M-30MgP) either. This release is again not proportional to the Mg content due to the autocatalytic effect. The hydroxide profusely precipitates in the cracks that increasingly appear in the matrix. This is reflected by an increase in water absorption and specimen mass associated to the reaction of Mg with the PBS medium.

**VII.** Different cell cultures tests have been carried out to check whether the new processing route developed in this thesis work impairs the biocompatibility of these PLA/Mg composites, and thus their viability.

**a.** The indirect cell tests allow to conclude that the components that are released during the degradation of the composite materials, after 1 month in the case of the tapes, do not produce cytotoxicity, both to fibroblast (MEF) and stromal cells (ST-2). The addition of Mg in the polymeric matrix produces an increase in cell viability of 125% in the tapes (MEF) and of 140% in the thermopressed materials (ST-2).

**b.** The direct tests performed on composite tapes allow to conclude that for all composites, with the exception of the one with 50% Mg (C-50MgX), there is a significant increase of cell viability with respect to the polymer material. The lower cell growth and adhesion in the material with the highest Mg content is due to the fact that, in these composites, there is a significant release of  $\text{H}_2$  during the first 24 h ( $0,08 \text{ ml/cm}^2$ ), especially in the areas in which particle agglomeration occur.

